Archiv für Protistenkunde

Begründet von

Dr. Fritz Schaudinn

herausgegeben von

Prof. Dr. M. Hartmann und **Prof. Dr. S. von Prowazek**
Berlin Hamburg

Fünfunddreissigster Band.

Mit 24 Tafeln und 65 Textfiguren

JENA
Verlag von Gustav Fischer
1915

Inhaltsübersicht.

Erstes Heft.

(Ausgegeben am 6. Juli 1914.)

Abhandlungen: Seite

SCHILLING, CLAUS und HANS SCHRECK: Trypanosomen-Studien. (Mit 19 Textfiguren) 1

FAURÉ-FREMIET, E.: Erythropsis agilis (R. HERTWIG). (Avec planche 1 et 12 figures dans le texte) 24

GRANATA, LEOPOLDO: Ricerche sul ciclo evolutivo di Haplosporidium limnodrili GRANATA. (Con le tavole 2—4 e 7 figure nel testo) 47

GOODEY, T.: A Preliminary Communication on three new Proteomyxan rhizopods from Soil. (With plates 5—8) 80

BĚLAŘ, K.: Bau und Vermehrung von Prowazekia josephi n. sp. (Mit Tafel 9 und 8 Textfiguren) 103

Zweites Heft.

(Ausgegeben am 3. November 1914.)

Abhandlungen:

BRUG, S. L.: Herpetomonas homalomyiae n. sp. (Mit Tafel 10) 119

BRUG, S. L.: Octosporea monospora (CHATTON u. KREMPF). (Mit Tafel 11 u. 12 und 2 Textfiguren) 127

PEREKROPOFF, G. J.: Über Kulturen der Plasmodien des tropischen Fiebers (Malaria tropica). (Mit Tafel 13—15) 139

HOGUE, MARY J.: Studies in the Life history of an Amoeba of the Limax group. Vahlkampfia calkensi. (With plates 16—18) 154

ROOT, F. M.: Reproduction and Reactions to food in the Suctorian, Podophrya collini n. sp. (With 11 text figures) 164

Kleinere Mitteilungen:

WOODCOCK, H. M.: On the occurrence in certain cases of a definite transmissive phase of a Trypanosome in the Vertebrate host . . . 197

MARZINOWSKY, E.: Mitteilung der Malaria-Kommission in Rußland . . . 198

Drittes Heft.

(Ausgegeben am 1. März 1915.)

Abhandlungen:

Seite

Léger, L. et O. Duboscq: Etude sur Spirocystis nidula Lég. et Dub. Schizogrégarine du Lumbriculus variegatus Müll. (Avec planche 19 et 4 figures dans le texte) 199

Kühn, Alfred: Über Bau, Teilung und Encystierung von Bodo edax Klebs. (Mit Tafel 20) 212

Moroff, Theodor: Zur Kenntnis der Sarkosporidien. (Mit Tafel 21—24 und 2 Textfiguren) 256

Gonder, Richard: Zur Übertragung von Haemoproteus columbae 316

Nachruf:

Walter Mulsow † 324

(Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten „ROBERT KOCH";
Direktor Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. LÖFFLER.)

Trypanosomen-Studien.[1])

Von
Prof. Dr. **Claus Schilling** und Dr. **Hans Schreck.**

I. Morphologische Untersuchungen an verschiedenen Stämmen ostafrikanischer Tiertrypanosomen.

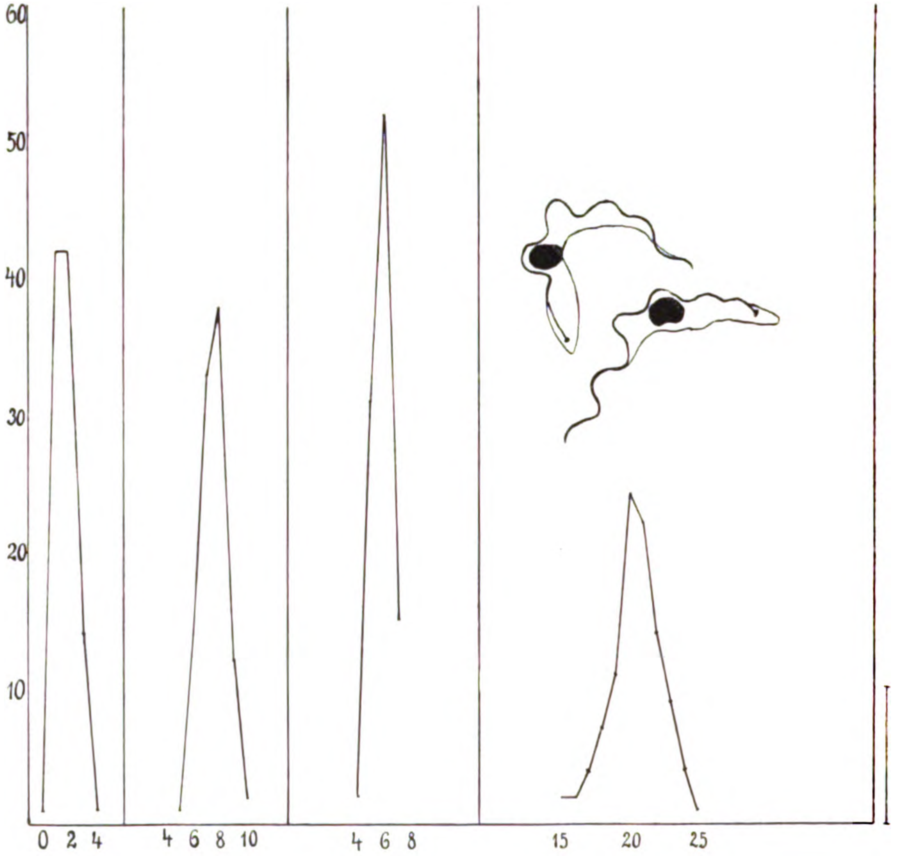
Im Laufe der ersten Monate meiner Tätigkeit in Makatumbe (Deutsch-Ostafrika) hatte ich mir folgende Stämme von Tiertrypanosomen verschafft.

---

[1]) Die vorliegende und die folgenden Mitteilungen bringen die Ergebnisse einer Expedition, welche in erster Linie Untersuchungen über die Möglichkeit einer Immunisierung gegen Trypanosomenkrankheiten bezweckte. Die Mittel zu dieser Forschungsreise verdanke ich der Kaiser Wilhelm-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften; der übrige Teil der Summe wird gegeben von dem Ausschuß der Wohlfahrtslotterie für die deutschen Schutzgebiete, und dem Reichskolonialamt, die sie in wahrhaft großzügiger Weise bewilligt haben.

Ich hoffe durch diese Studien zeigen zu können, daß die in erster Linie zu praktischen Zwecken entsandte Expedition doch auch für die reine Wissenschaft einige Ergebnisse gezeitigt hat, daß ich bestrebt war, die großen Mittel nach beiden Richtungen hin nutzbringend zu verwenden. Sie sollen, später zusammengefaßt und vielleicht durch Arbeiten im heimischen Laboratorium erweitert und ergänzt, den Dank der Wissenschaft an die hochherzigen Förderer der Forschung zum Ausdruck bringen.

1. Stamm „Ferox“, abgezweigt vom Naganastamme Ferox Ehrlich's, in Berlin zuerst durch Mäuse, einmal durch Hundepassage geschickt, dann in Mäusen weitergeführt, Anfangs November 1912 auf Meerschweinchen verimpft und in diesen hierher gebracht.



Stamm 1: „Ferox“.

Das Präparat, in welchem die zur Messung ohne Auswahl verwendeten Trypanosomen enthalten sind, stammte von einem Meerschweinchen, das am 4. Juni von der XVII. Meerschweinchenpassage aus geimpft worden war; langsames Ansteigen der Trypanosomenzahl bis ++++, dann vorübergehend +++, später wieder ++++; Blutentnahme am 14. Tage nach der Impfung des Tieres.

Die Kurven vom Stamm Ferox zeigen, daß der Blepharoplast manchmal im Hinterende, sehr häufig dicht hinter ihm liegt; daß der Hauptkern sich meist in der Nähe der Grenze zwischen hinterem und mittlerem Drittel des Körpers befindet; die Gesamtlänge ist eine ziemlich gleichmäßige, es gibt nur wenige kurze und lange Formen, 60 Proz. sind 19—22 μ lang. Die Zeichnung läßt die plumpe Gestalt und die breite undulierende Membran erkennen.

Die Präparate waren Blutausstriche, getrocknet, in Alc. absol. fixiert und nach Romanowsky gefärbt. Die den Kurven beigegebenen Zeichnungen stellen extreme Formen dar, zwischen ihnen fanden sich, wie auch aus den Kurven hervorgeht, stets Übergangsformen. Sie sind gezeichnet mit Zeiss Okular 12, armiert mit dem Leitzschen Zeichenprisma, und hom. Immersion 2 mm, 1,30 numm. Apertur; Papier auf Tischhöhe. Ich zeichnete ferner von je 100 Trypanosomen die Längsachse des Körpers und trug auf diese die Lage des Blepharoplasten und des Hauptkernes auf. Zur Messung hatte ich mir ein Rädchen (durch Zurechtfeilen eines Hosenknopfes, c'est l'Afrique!) angefertigt, dessen Umfang genau gleich 22,6 mm = 10 μ war, und in 10 Teile geteilt, mit dem ich die Längsachse entlang fuhr und die einzelnen Entfernungen notierte. Die Messungen mit diesem Instrument sind genauer als die mit einem Zirkel. Teile von Mikra wurden geschätzt und abgerundet.

In den Kurven bedeutet:

Die erste Kolonne die Entfernung vom Hinterende bis zum Blepharoplasten (auf die Längsachse projiziert);

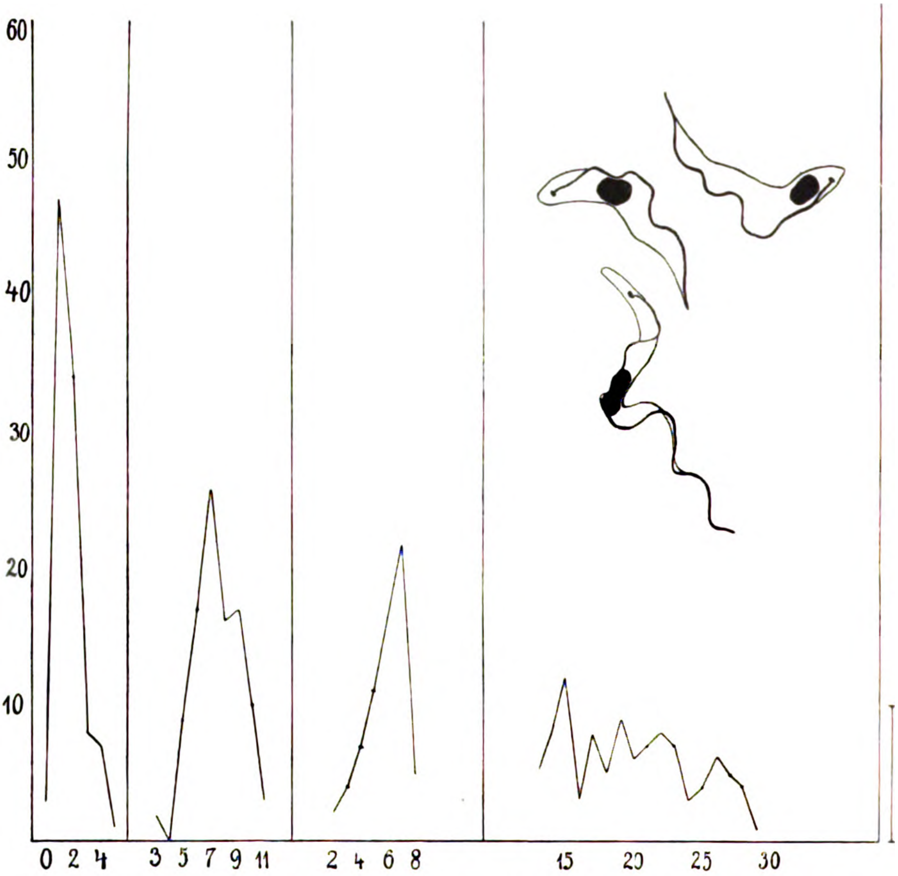
die zweite Kolonne die Entfernung vom Hinterende bis zur Mitte des Hauptkernes (auf die Längsachse projiziert);

die dritte Kolonne die Entfernung zwischen Blepharoplast und Mitte des Hauptkernes;

die vierte Kolonne die Länge der Längsachse inklusive Geißel.

2. Stamm Punda, aus einem chronisch kranken Esel, der dem Häuptling Kirundia gehörte, also sich in derselben Gegend infiziert hatte, wie das Pferd „Kirundia", von dem der gleichnamige Stamm Nr. 3 abgeimpft wurde. 4 Meerschweinchen —, 6 Rattenpassagen, von der letzten die Präparate angefertigt.

Dieser Stamm zeichnet sich dadurch aus, daß Formen von 13—29 μ Länge in ziemlich gleichmäßiger Verteilung vorkommen.

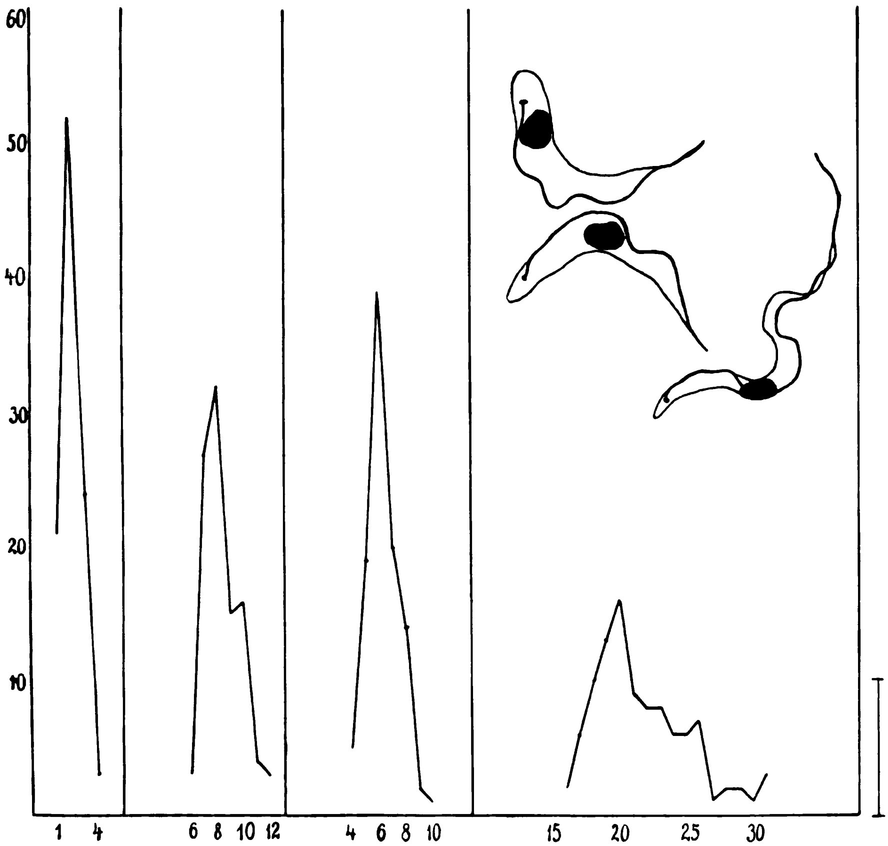


Stamm 2: „Punda".

Blepharoblast meist ganz nahe dem Hinterende, Hauptkern der längeren Formen nahe der Körpermitte. Bei 13 Proz. aber ist der Hauptkern dem Blepharoplast auf wenige (2—4) μ genähert. Zwischen den kurzen, plumpen Formen mit rückwärts verlagertem Hauptkern und breiter undulierender Membran und den langen schlanken

Formen mit mittelständigem Kern und schwacher undulierender Membran sind alle Übergänge vorhanden.

3. Stamm Kirundia. Ich hatte auf meiner Expedition zum Häuptling Kirundia ein Pferd mitgenommen und dieses dort vom 12. I. 13 ab den Stichen von Tsetsefliegen (*Glossina morsitans*) ausgesetzt. Am 21. I. erkrankte das Pferd mit Fieber, am 22. I. wurde



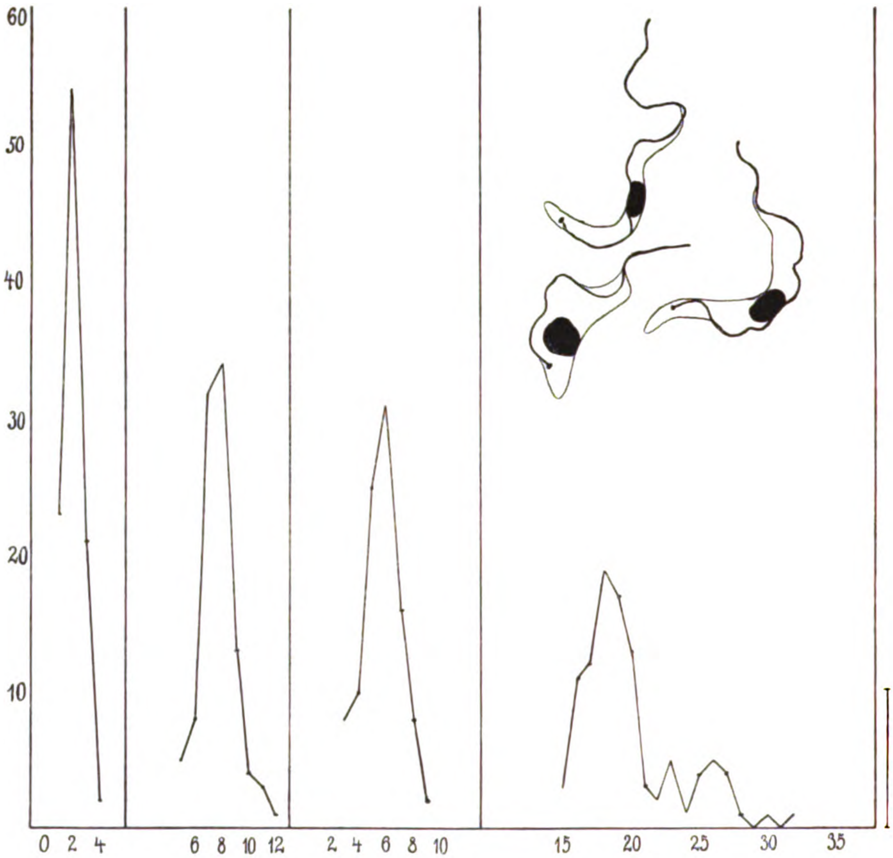
Stamm 3: „Kirundia".

das trypanosomenhaltige Blut auf Meerschweinchen und Ratten verimpft. Ausschließlich Rattenpassagen, die Präparate von der XXI. Passageratte.

Auch hier finden wir, wie bei „Punda" eine große Variationsbreite von 16—31 μ Gesamtlänge; ebenso finden sich Formen, in denen der Hauptkern dem Blepharoplasten bis auf 4 μ genähert ist. Auch hier sämtliche Übergänge zwischen kurzen plumpen und langen schlanken Formen, gleichmäßig verteilt.

4. Stamm Gnu, am 14. I. 13 aus einem erlegten Gnu auf eine Ratte verimpft. Passage: 1 Ratte, 3 Meerschweinchen, 6 Ratten, von der letzten am 12. Tag nach der Impfung Präparate.

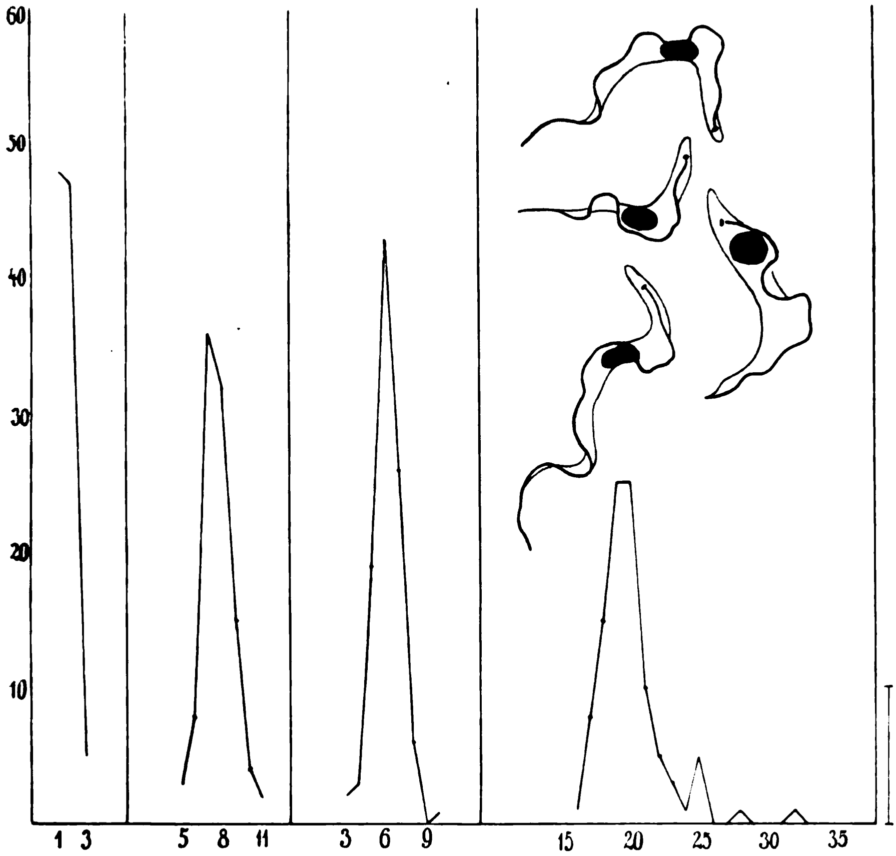
Bei diesem Stamme überwiegen die kurzen Formen (65 Proz. kürzer als 20 μ) aber es kommen auch lange und vereinzelt sehr lange Formen vor. Viele Formen (18 Proz.) zeichnen sich durch eine be-



Stamm 4: „Gnu“.

trächtliche Annäherung des Hauptkerns und des Blepharoplasts — aus (4 μ und weniger). Andererseits ist bei den langen Formen eine Distanz von 7 und 8 μ nicht selten. Die Formen, bei welchen der Hauptkern nach hinten gerückt ist, sind sämtlich plump, sehr breit, die Geißel überragt kaum das Vorderende. Der Kern ist sehr groß und rund.

5. Stamm Ngerengere. Ein Boy war zum Fliegenfangen in Ngerengere an der Zentralbahn ca. 150 km landeinwärts stationiert worden, er hatte 4 Meerschweinchen mitbekommen, an denen er die frisch gefangenen Fliegen füttern sollte. Am 13. IV. erwiesen sich die beiden übrig gebliebenen als infiziert. Es handelt sich also um

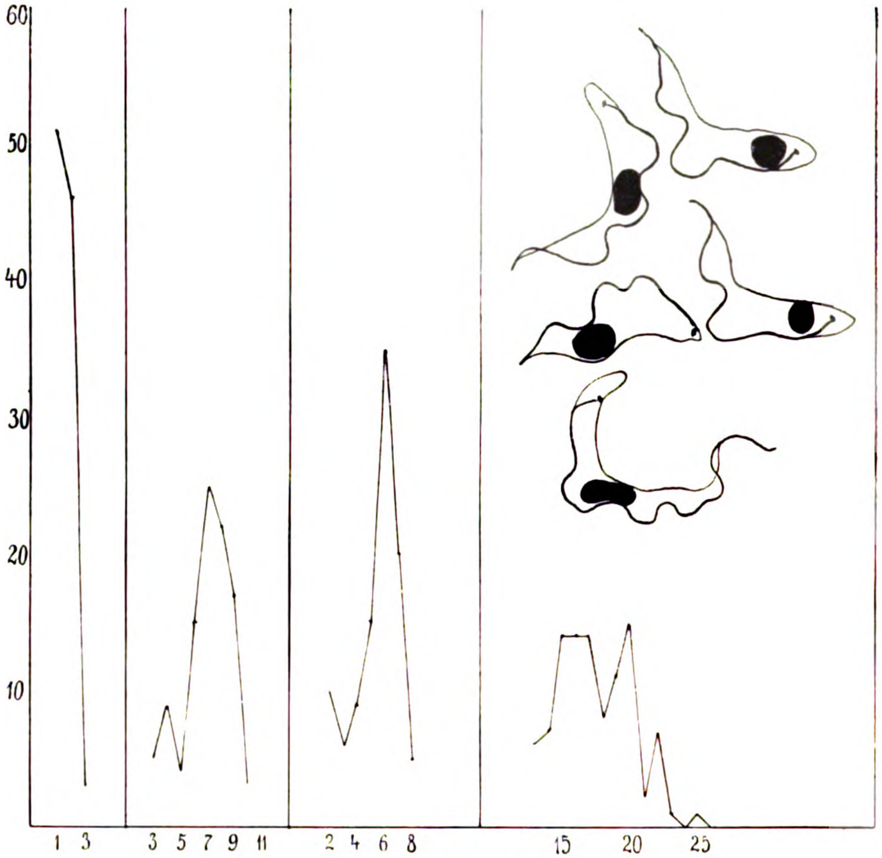


Stamm 5: „Ngerengere“.

einen „gemischten“ Stamm, da das eine Meerschweinchen, von dem der Stamm abgezweigt wurde, in der Zeit von Anfang Februar bis Mitte April von Fliegen verschiedener Provenienz gestochen wurde. Vom Original-Meerschweinchen 5 Rattenpassagen, von der letzten die Präparate, am 9. Tage nach der Infektion.

74 Proz. des Trypanosomen sind 20 μ und weniger lang, doch kommen vereinzelt auch sehr lange (32 μ) Formen vor. Blepharoplast stets nahe dem Hinterende.

6. Stamm Glossina. Am 14. I. 13 hatte ich beim Jumben Kirundia Glossinen präpariert und bei nahezu allen den Darm mit Flagellaten infiziert gefunden. Eine Suspension von solchen Flagellaten in Kochsalzlösung injizierte ich einer Ratte intraperitoneal. Am 20. Februar, also 37 Tage später, zeigte die Ratte die ersten Trypanosomen im Blut. Nach den Untersuchungen von Kleine und



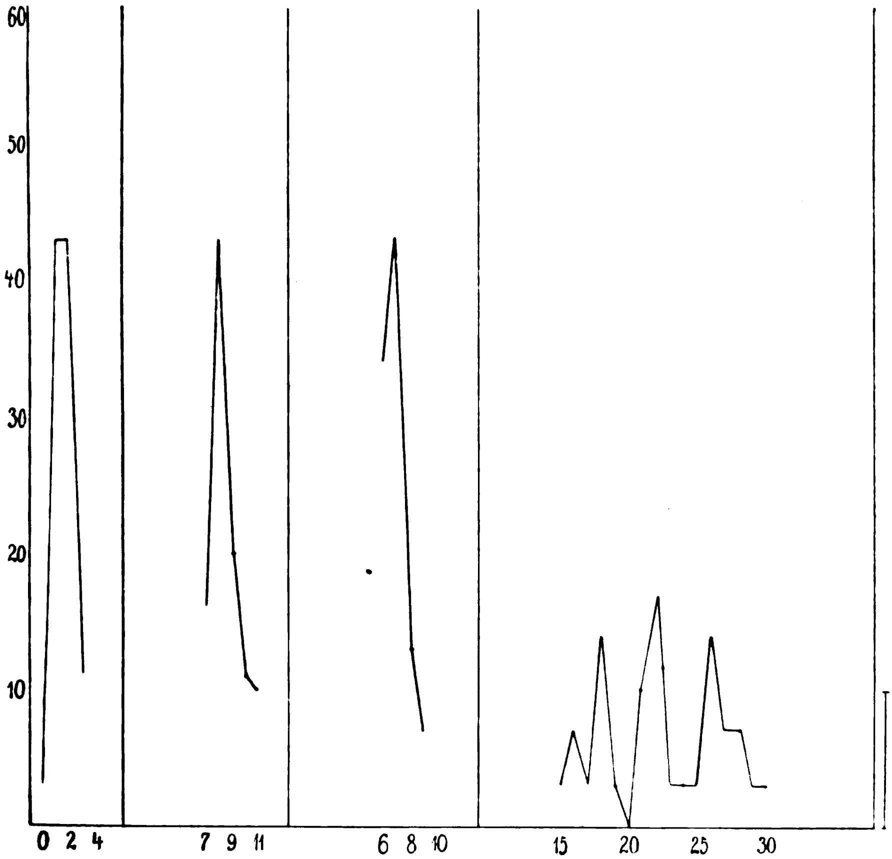
Stamm 6: „Glossina".

Eckard ist es sehr wahrscheinlich, daß ich beim Präparieren die Speicheldrüsen verletzt hatte und so infektiöse Trypanosomen mit unter die [nicht infektiösen] Darm-Trypanosomen hineinbekommen hatte.

Das Präparat stammte von der 13. Rattenpassage; Infektion am 30. V., nach 3 Tagen + +, nach 5 Tagen + + + +, hiervon das Präparat.

Auch bei diesem Stamm überwiegen die kurzen Formen und ganz besonders zahlreich treten diejenigen hervor, bei denen Hauptkern und Blepharoplast sehr nahe aneinander liegen (bei 25 Proz. ist die Entfernung 2—4 μ). Doch kommen auch ganz kurze Formen vor, bei denen der Kern in der Mitte des Leibes, sogar geißelwärts liegt. Überhaupt ist die Variationsbreite in der Lage des Kernes eine sehr große.

7. Stamm Kibunga, Ratte A. Aus dem Blute eines am 14. I. 13 geschossenen Riedbockes (in Kisuaheli: Kibunga) wurde

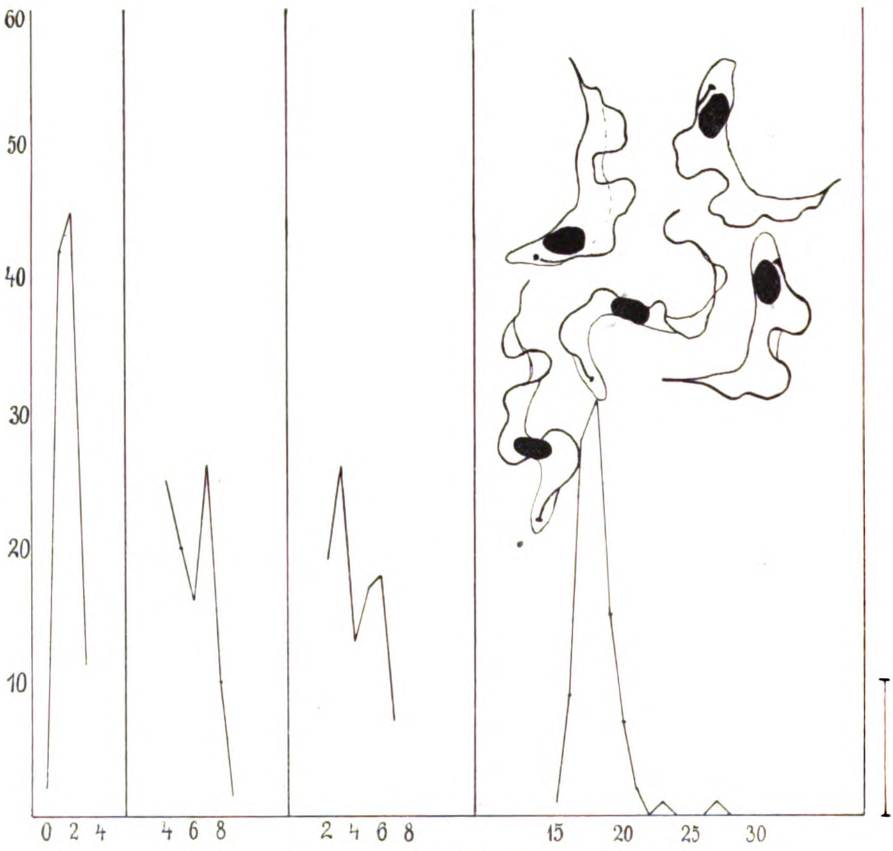


Stamm 7: „Kibunga“, Ratte A.

durch Überimpfung auf eine Ratte ein Trypanosomenstamm gewonnen, der sich nicht wesentlich von dem gewöhnlichen *Tryp. brucei* zu unterscheiden schien.

Das Präparat wurde 11 Tage nach der Infektion der Ratte entnommen, die Trypanosomen waren ++. Es konnten deshalb in dem zufällig sehr dünnen Ausstrich nachträglich nur 30 Trypanosomen gezählt werden, die Zahlen für die Kurve wurden, der Einheitlichkeit halber, auf 100 umgerechnet. Daher kommt es wohl daß die Kurve der Längsmaße eine so unregelmäßige Form hat. Immerhin läßt sie erkennen, daß alle Formen zwischen 16 und 28 μ annähernd gleichmäßig vertreten sind, extreme Formen selten vorkommen.

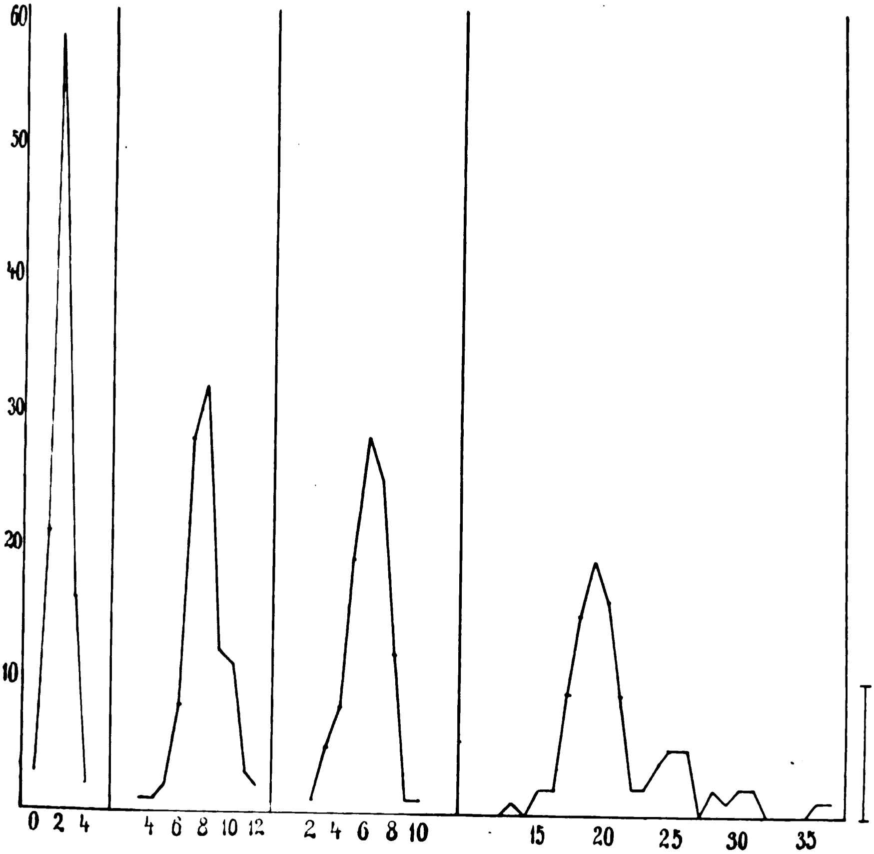
8. Stamm Kibunga, Maus B. Von der Originalratte A wurde am 29. I., also 15 Tage nach der Infektion eine Maus geimpft und



Stamm 8: „Kibunga“, Maus B.

diese am 6. Tage nach der Infektion mit ++++ Trypanosomen getötet. Im Präparat fielen mir damals zum ersten Male zahlreiche kurze Formen auf, charakterisiert durch die Lagerung des Haupt-

kernes dicht neben dem Blepharoplasten. Bei 68 Proz. der Trypanosomen betrug die Entfernung 4 μ und weniger, doch kamen auch vereinzelt längere Formen vor. Nun erst wurde das Präparat der Originalratte A hervorgeholt und konstatiert, daß kurze Formen in diesem Präparate nicht häufig, lange Formen aber keineswegs selten waren und daß vor allem jene Gebilde mit dem Hauptkern in der Nähe des Blepharoplasten ganz fehlten. Es war nun interessant zu sehen, ob der Stamm vielleicht nach einiger Zeit andere Formen entwickeln würde. Es wurden nach einigen (wahrscheinlich 3, die Zahl ist nicht mehr genau zu ermitteln) Rattenpassagen von

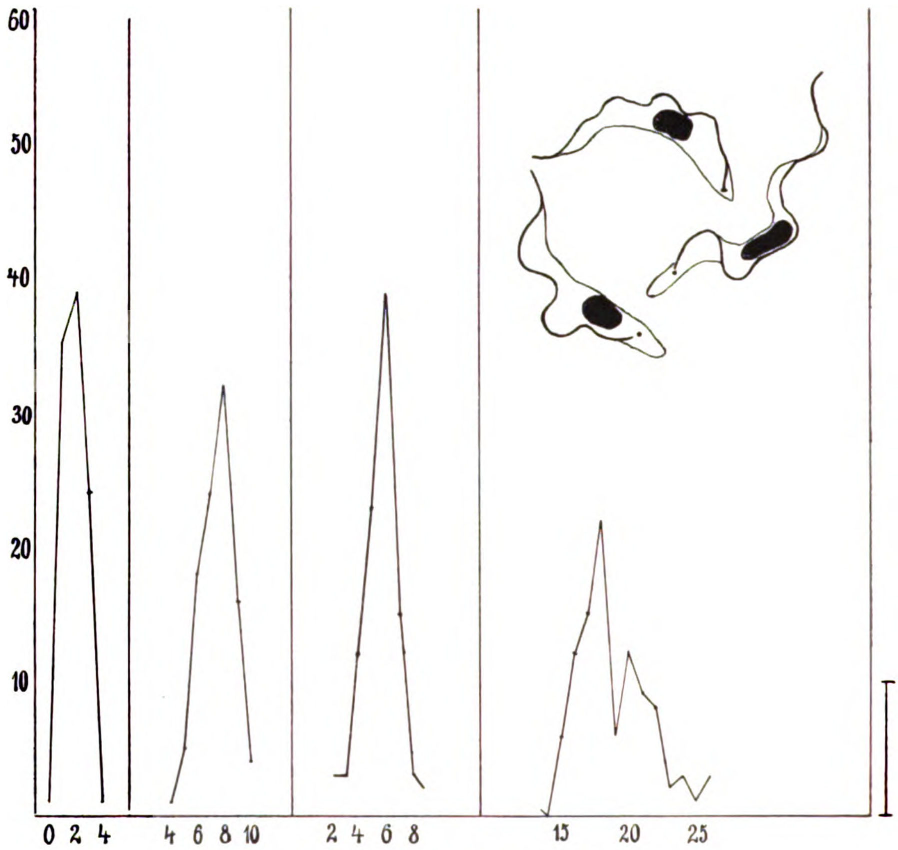


Stamm 9: „Kibunga“, Ratte C.

9. Stamm Kibunga, Ratte C neuerdings Messungen angestellt. Diese ergaben ein weiteres, von den ersten beiden verschiedenes Bild: mittelgroße Formen überwiegen, aber kleinste (13 μ) kommen

vor und ebenso sind Entfernungen zwischen Hauptkern und Blepharoplast von 2—10 μ vorhanden. Diese Präparate sind die an extremen Formen reichhaltigsten.

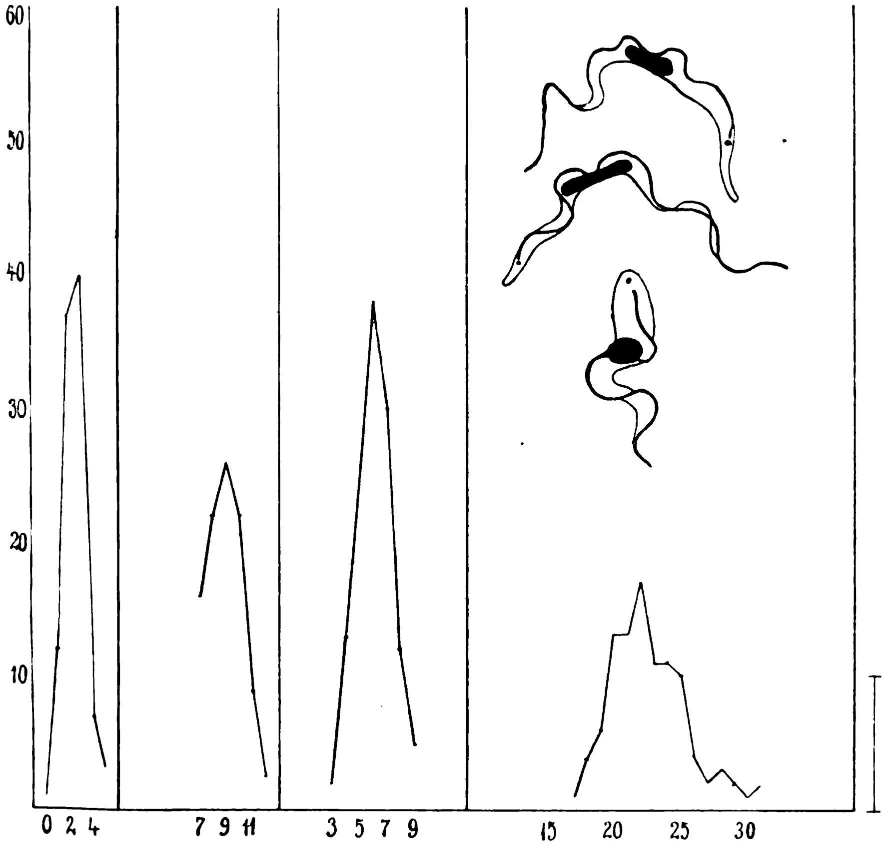
Noch zweimal wurde dieser Stamm genauer untersucht:



Stamm 10: „Kibunga“, Maus D.

10. Stamm Kibunga, Ratte D (20. Rattenpassage, 14. Tag nach der Infektion) zeigte zwar einige Formen des kurzen Typs mit benachbarten beiden Kernen, aber nur wenige mäßig lange Formen.

11. Stamm Kibunga, Maus E, von Ratte D abgeimpft, am 3. Tag der Infektion, ++++, wies nur wenige plumpe Formen, bei denen Hauptkern und Blepharoplast zusammengerückt waren, auf, dagegen einige längere Formen. Daraus läßt sich schließen, daß nicht der Übergang von der Ratte in die Maus allein das Auftreten jener eigentümlichen kurzen Formen veranlaßt.



Stamm 11: „Kibunga“, Maus E.

12. Es war in Anbetracht der beträchtlichen Schwankungen in der Morphologie eines und desselben Stammes bei verschiedenen Tieren von Interesse, zu untersuchen, ob sich bei dem nämlichen Individuum im Verlaufe der Infektion Schwankungen ergeben.

Es wurde deshalb Ratte F. subkutan geimpft von der 2. Meerschweinchenpassage nach vorausgegangenen 19 Rattenpassagen, und

in 3 tägigen Abständen Blutpräparate angefertigt. Tabelle 13 u. 14 geben die Befunde wieder.

Diese Tabellen weisen ganz bedeutende Verschiedenheiten auf. Am 6. Tage der Infektion (Tabelle 13) ist neben vielen kurzen und mittleren Formen eine beträchtliche Zahl von langen Formen vorhanden. Schon nach 3 Tagen treten sie aber zurück und verschwinden später fast ganz (12. Tag); auch die mittleren Formen gehen zurück, die kurzen überwiegen bedeutend. Aber am 18. Tage treten wieder mehr

Tabelle 13, 1. Teil.

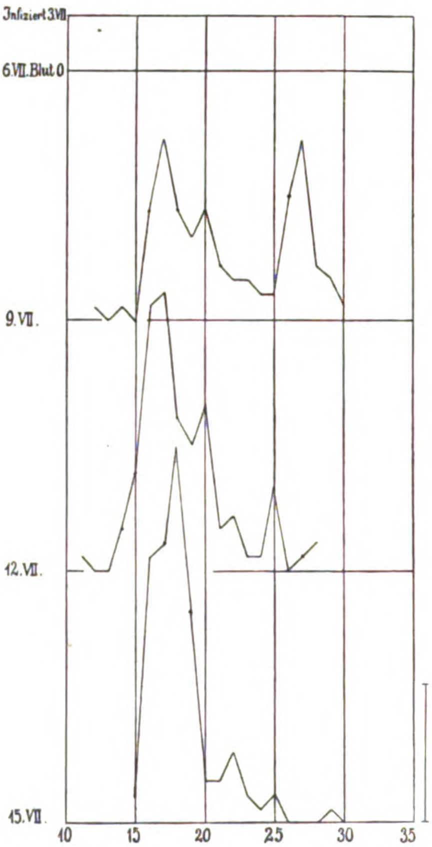
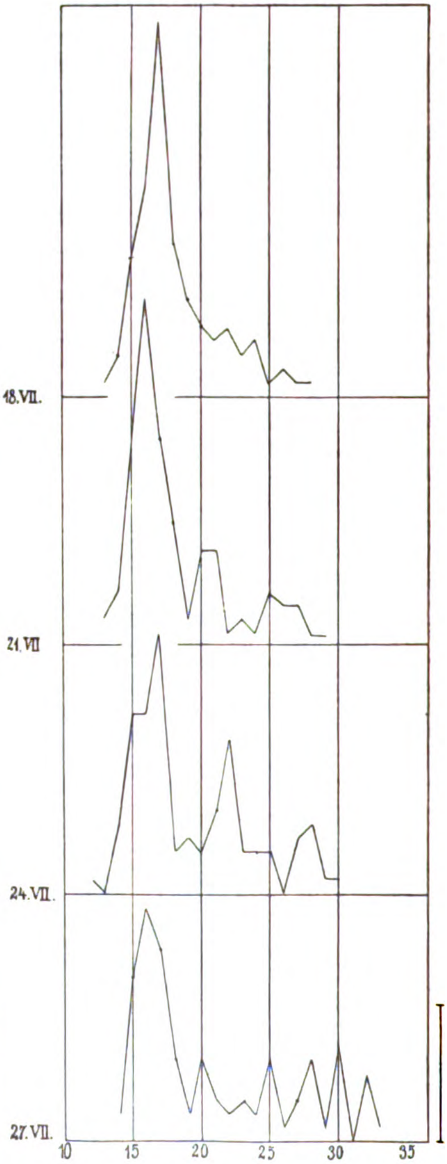


Tabelle 13, 2. Teil.



Stamm „Kibunga“, Ratte F. Längenmaße.

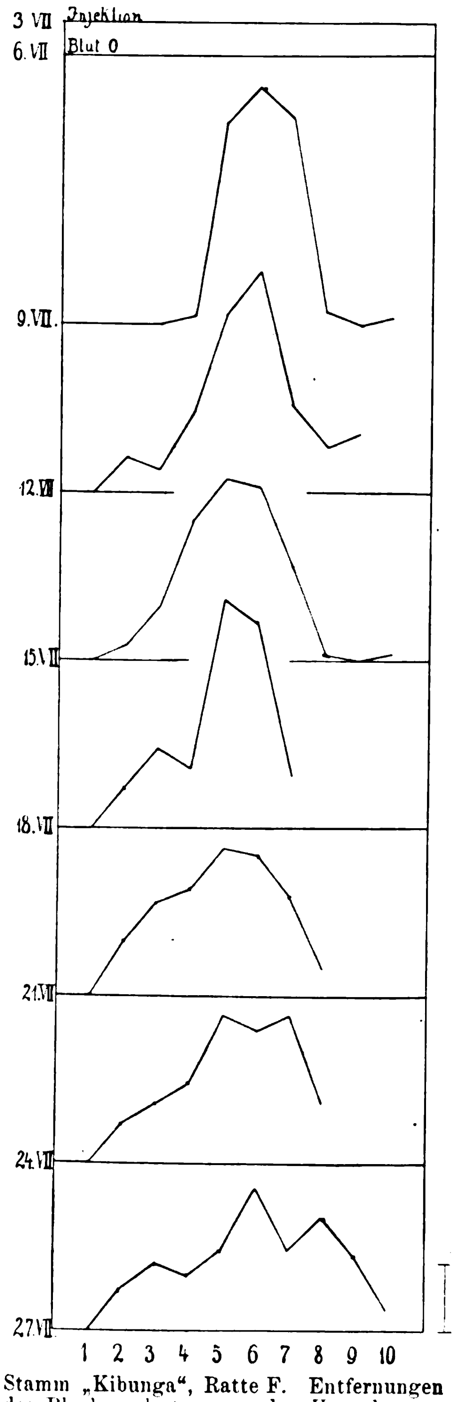
Mitteltypen auf, sie vermehren sich bis zum 21. Tage und von da ab kommen immer mehr lange, selbst extreme Formen zum Vorschein. Die Unterschiede sind so auffallend, daß man, wenn man Präparate vom 15. und vom 24. Tage hintereinander betrachtet, verschiedene Trypanosomenarten vor sich zu haben glaubt.

Nicht minder instruktiv ist die Tabelle 14, die sich auf die Entfernung zwischen Hauptkern und Blepharoplast bezieht. 6 Tage nach der Infektion liegen die Werte nahe beisammen (5—7 μ bei 96 Proz. der Flagellaten). Dann aber rücken die beiden Kerne immer näher zusammen, und erst mit dem Wiederauftreten langer Formen finden sich auch wieder höhere Werte.

Sämtliche Ergebnisse dieser Messungen sind nochmals in der beigegebenen Tabelle 15 zusammengefaßt. Die horizontalen Striche bedeuten die gefundenen Werte; am weitesten links die Entfernungen des Blepharoplasten vom Hinterende; dann die Entfernungen des Hauptkerns vom Hinterende, am weitesten nach rechts die Gesamtlängen. Die senkrechten Striche bedeuten die Durchschnittswerte von je 100 Messungen.

In Tabelle 16 sind noch

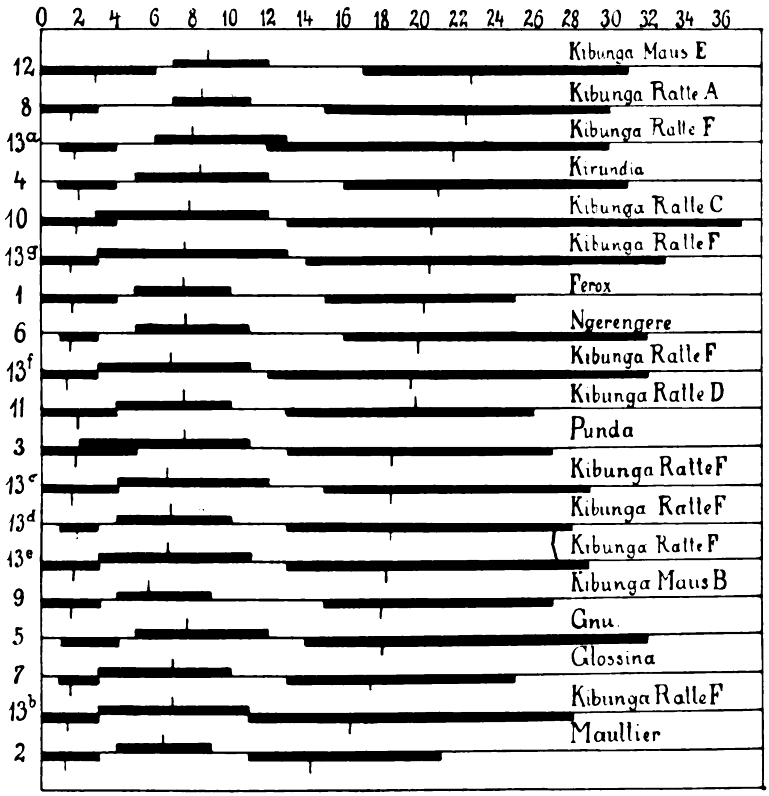
Tabelle 14.



Stamm „Kibunga“, Ratte F. Entfernungen des Blepharoplasten von den Hauptkernen.

einmal die **Extreme** der Entfernungen zwischen Hauptkern und Blepharoblast beim Stamm Kibunga zusammengestellt.

Tabelle 15.



Die Unterscheidung der pathogenen Trypanosomenarten ist eine der meist umstrittenen Fragen in der Lehre von diesen Krankheitserregern. Bruce[1]) hat hierfür die Messung der Längsachse empfohlen und eine Anzahl von Kurven gegeben, für *Trypanosoma brucei, pecorum, vivax, uniforme* und *nanum*. Auf den ersten Blick sind nun allerdings diese Kurven so sehr voneinander verschieden, daß sie wohl zur Trennung der genannten Arten zu berechtigen scheinen.

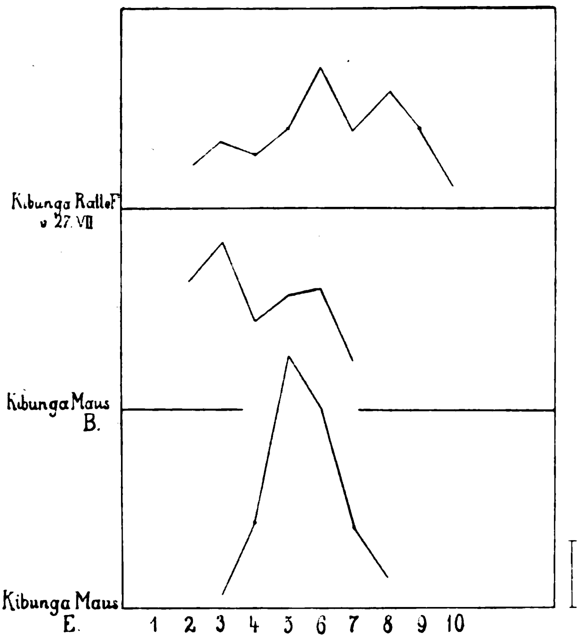
Betrachten wir aber einmal die Kurven des Trypanosomastammes Kibunga in Tabelle 13. Die erste Kurve (Ratte F. vom 9. VII.)

---

[1]) Report XI of the Sleeping Sickness Commission p. 128—170.

zeigt einen ausgesprochen dimorphen Typus (Maxima zwischen 16 u. 18 und bei 26 u. 27 μ). Die Kurve von Maus B (Nr. 8) weist in ihrer Form (88 Proz. zwischen 16 u. 19 μ, Maximum bei 17 u. 18 μ) eine große Ähnlichkeit mit den monomorphen *Tryp. vivax, uniforme* und *nanum* auf, unterscheidet sich aber von diesen in bezug auf die Zahlenwerte (beim *Tryp. vivax* 16—31 μ, Maximum zwischen 22 u. 27 μ; beim *Tryp. uniforme* 12—19 μ, Maximum zwischen 15 u. 17 μ; beim *Tryp. nanum* 10—16 μ, Maximum zwischen 13 u. 15 μ). Von längeren

Tabelle 16.



Formen (23 u. 27 μ) wurden nur zwei Exemplare gefunden. — Sehr weitgehend ist die Übereinstimmung zwischen der Kurve der Ratte C (Nr. 9) und der von Bruce mitgeteilten Kurve des *Tryp. brucei.* — Ganz isoliert steht die Kurve von Maus E (Nr. 11). Diese Unterschiede sind so beträchtlich, daß sie wohl genügen könnten, aus dem einen Stamm Kibunga vier Arten zu machen!

Die Tabelle 13 illustriert den starken Polymorphismus innerhalb eines und desselben Tieres sehr deutlich.

Ein Trypanosoma mit Längenmaßen wie bei Maus B oder Maus E wird man, falls nur eine einzige Untersuchung stattgefunden hat, nicht als *Tryp. brucei* bezeichnen. Und doch muß es auf Grund der Kurve von Ratte C und den Kurven von Ratte F vom 6., 24. und 27. VII. zum *Tryp. brucei* gerechnet werden.

Da nun weder die Morphologie, noch nach meiner Auffassung die serologischen Methoden, noch die kreuzweise Immunisierung, noch auch die Tierpathogenität genügend scharfe Kriterien für Artverschiedenheit innerhalb der *Brucei*-Gruppe zu liefern vermögen, so bezeichne ich die zwei oben beschriebenen Stämme als *Trypanosoma brucei*, die dadurch hervorgerufene Erkrankung als Nagana.

Daraus ergeben sich die Schlußfolgerungen:

Messungen nach Bruce an einer oder einigen wenigen Blutproben eines mit einem Trypanosoma infizierten Tieres genügen nicht, um festzustellen, zu welcher Art dieses Trypanosoma gehört.

Die Schwankungen in der Länge der einzelnen Individuen sind selbst bei einer Tierart, ja bei einem Individuum sehr bedeutende.

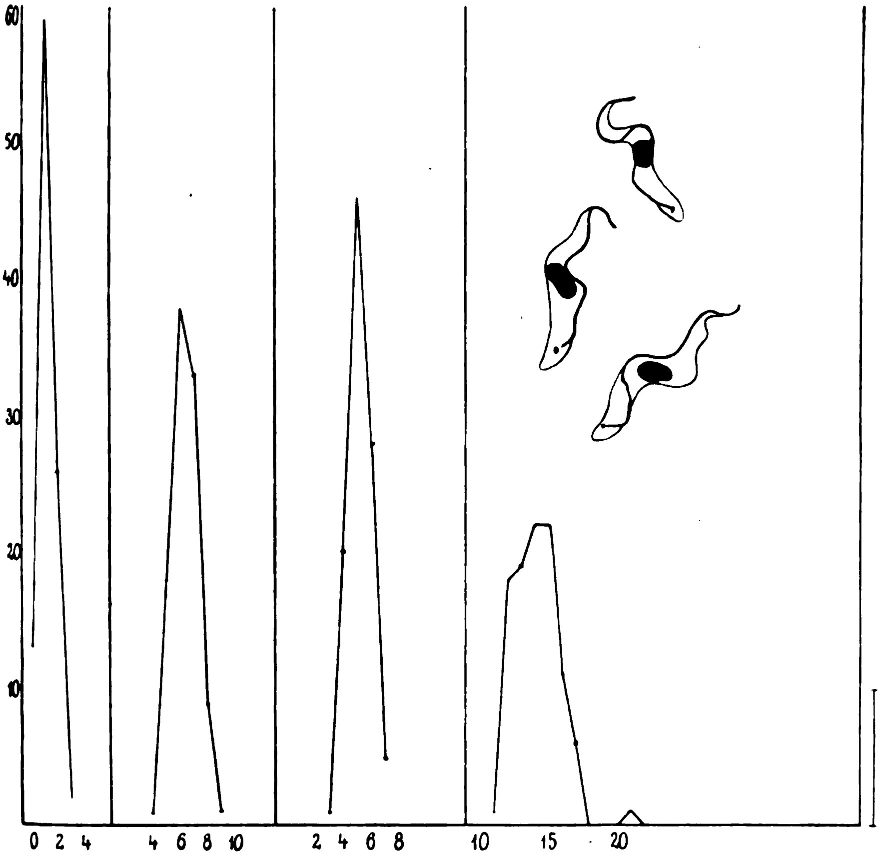
Zur Charakterisierung einer Art können die Messungen nach Bruce nur dann verwertet werden, wenn die Kurven sich entweder bei allen Versuchstieren und in allen Stadien des Verlaufes decken, oder wenn sich die Schwankungen der verschiedenen Maße im Verlaufe der Infektion annähernd genau periodisch wiederholen sollten.

Während die bisher geschilderten Stämme alle zum *Trypanosoma brucei* gehören, weicht ein achter Stamm beträchtlich von diesem ab.

Stamm Maultier, abgeimpft von einem chronisch tsetsekranken Maultier, das mir Herr Dr. Lichtenheld freundlichst zur Verfügung stellte. Wo das Tier infiziert worden war, ließ sich nachträglich nicht mehr ermitteln. Zuerst auf Meerschweinchen, dann auf Ratten weitergezüchtet, Präparat nach 3 Meerschweinchen — aus der 4. Rattenpassage entnommen (15 Tage nach der Infektion).

An diesem Stamm fällt vor allem die Kleinheit der Individuen auf: 81 Proz. aller Individuen sind 12—15 μ lang. Die Geißel ragt nur wenig über das Vorderende des Plasmaleibes hinaus. Der Blepharoplast sitzt meist dicht am Hinterende.

Der Körper ist plump; auch die längsten Formen haben einen gedrungenen Körper. Diese Trypanosomen sind also morphologisch ziemlich scharf charakterisiert.

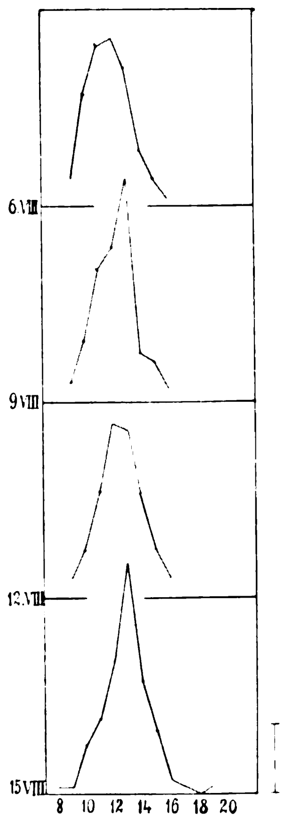


Stamm „Maultier“.

Nach den Erfahrungen mit Stamm Kibunga war es aber sehr gut möglich, daß hier nur eine kurze Wuchsform einer polymorphen Trypanosomenrasse herausgegriffen worden war. Ich wiederholte also den Versuch wie bei Kibunga Ratte F. Infektion am 3. VIII.,

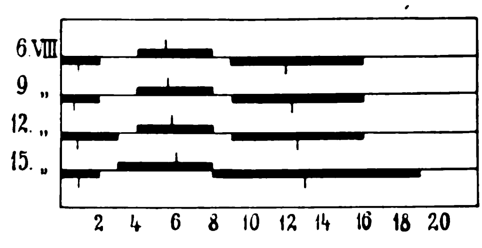
Ratte am 17. VIII. tot. An den Tabellen 17 und 18 fällt nun sofort, im Gegensatz zu Tabelle 13, die Gleichmäßigkeit der Kurven auf, die Gipfel liegen um 12 μ herum, Maximum 19 μ (1 Exemplar) meist 16 μ; Minimum 8, meist 9 μ. Diese Konstanz des Typus spricht, noch mehr als die extreme Kleinheit, dafür, daß hier tatsächlich nicht bloß eine extreme Form von *Tryp. brucei*, sondern eine eigene Art vorliegt. Und nach einem Vergleich mit der von Broden (1904) gegebenen Beschreibung der kleinen Trypanosomen vom unteren Kongo kann es sich nur um *Tryp. congolense* handeln.

Tabelle 17.



Diese Trypanosomen wurden längere Zeit in Mäusen, Ratten und Meerschweinchen weitergezüchtet und sind für diese Tiere pathogen. Das *Trypanosoma nanum* ist nach den Untersuchungen von Balbour für kleine Versuchstiere, auch für Affen und Hunde nicht pathogen; ein ähnliches Trypanosoma, daß sich bei 4 Affen und 20 Hunden als apathogen erwies, fanden Kleine und Fischer am Tanganjikasee. Es gibt also in unserem ostafrikanischen Schutzgebiet zum mindesten zwei kurzgeißelige Trypanosomenarten. Ob das einzige Kriterium, das sie unterscheidet, die verschiedene Pathogenität für Hunde und Affen, völlig stichhaltig ist, kann ich auf Grund meiner Versuche nicht sagen.

Tabelle 18.



II. Zur Frage des Typus *Trypanosoma rhodesiense*.

Charakteristisch für diesen Trypanosomentypus, der zuerst von Stephens u. Fantham bei einem Kranken aus Rhodesia beobachtet wurde, ist bekanntlich, daß der Hauptkern nahe an den Blepharoplast heranrückt, ja sogar noch hinter diesem liegen kann.

Das Vorkommen des Rhodesiensetyps bei der Maus Kibunga E veranlaßte mich, bei den Messungen auch der übrigen Stämme nicht bloß die Gesamtlänge, sondern auch die Lage der beiden Kerne zueinander zu berücksichtigen. Diese Art der Messungen bot den Vorteil, daß die Lage des Hauptkernes zum Blepharoplast zahlenmäßig festgelegt und graphisch dargestellt werden kann. Die Tabellen 13 und 14 zeigen, welch bedeutende Ungleichheiten in diesen Maßen vorkommen können, selbst innerhalb eines und desselben Versuchstieres. Formen bei denen der Hauptkern hinter dem Blepharoplast läge, sind mir nicht zu Gesicht gekommen. Die kleinste Distanz war etwa 2 μ, wobei berücksichtigt werden möge, daß ich stets die Mitte des Hauptkerns der Messung zugrunde legte. Da dieser häufig mehrere (3—4) μ Durchmesser hat, so bedeutet eine Distanz z. B. von 2 μ, daß der Blepharoplast dem Hauptkern unmittelbar anlag.

Aus den Kurven geht hervor:

Der Typus „Rhodesiense“ ist nichts dem menschlichen Trypanosoma aus Rhodesia und Nyassaland eigentümliches. Er kommt bei verschiedenen aus Tieren isolierten Trypanosomen Ostafrikas vor z. B. den Stämmen Punda, Kirundia, Gnu, Ngerengere, Glossina, Kibunga.

Kinghorn und Yorke haben den gleichen Befund im Luangwa-Tal (Rhodesia) bei Trypanosomen aus Wild gemacht. (Die Arbeit ist mir nur in dem, allerdings vorzüglichen, Referat im Bulletin of the Sleeping Sickness Bureau, Band 4, Seite 170 zur Hand.) Sie sagen, daß der menschliche und der „Wild“-Stamm „morphologisch und in bezug auf die Tierreaktionen“ übereinstimmt; und später heißt es (im Referat) nochmals, daß diese „identisch“ seien.

Noch weiter als Kinghorn u. Yorke geht Bruce [1]): er bezeichnet

[1]) Bruce, Harvey, Hamerton, Davey und Lady Bruce in Proc. Roy. Soc. 1913 Ser. B Vol. 86; Referat im Tropical diseases Bulletin 1913 p. 671.

Tryp. brucei und *Tryp. rhodesiense* als identisch: „die menschliche Trypanosomiasis von Nyassaland ist Nagana." Und BRUCE zieht auch die Konsequenzen aus dieser Auffassung, daß in Fliegengebieten das Wild, welches das „*Trypanosoma brucei* vel *rhodesiense*" beherbergt, vernichtet („blottet out") werden müsse. Soweit sich das aus den Referaten beurteilen läßt, basiert BRUCE seine Anschauung hauptsächlich auf das morphologische Studium des menschlichen *Trypanosoma rhodesiense* einerseits, eines frisch isolierten Stammes von *Tryp. brucei* aus Zululand andererseits. Die weitgehende Übereinstimmung der beiden Typen bringt die Kommission zu der oben wiedergegebenen Schlußfolgerung der Identität beider Arten.

Diese Argumentation scheint nur nicht genügend in einer so schwerwiegenden Frage. Ich vermisse die meines Erachtens ausschlaggebende Reaktion mit Menschen-Normalserum. Ein Stamm, der, mit menschlichem Normalserum (mindestens 0,5 ccm) gemischt und Tieren eingespritzt, bei diesen nicht angeht, ist — soweit unsere augenblicklichen Kenntnisse reichen — nicht menschenpathogen, gehört also nicht zur Art *Trypanosoma gambiense* bzw. *rhodesiense.* Alle anderen Merkmale (Tierpathogenität, „kreuzweise" Immunität) sind meines Erachtens nicht so scharf spezifisch, daß sie den Ausschlag zu geben geeignet wären. Ich habe deshalb die Reaktion mit normalem (meinem eigenen) Menschenserum bei meinem Stamm Kibunga angestellt. Sie hat ergeben, daß die Infektion durch dieses Serum verhindert wird. Es liegt also ein nicht menschenpathogener Stamm vor. Bei 16—44 % der Trypanosomen liegt der Blepharoplast 2—3 μ von der Mitte des Hauptkerns entfernt. Die Kurve, welche in dem Referate der Arbeit von KINGHORN u. YORKE beigefügt ist, deckt sich ziemlich genau mit der Kurve der Längenmaße bei Kibunga Ratte C. Diese stimmt hinwiederum gut überein mit der von BRUCE mitgeteilten Kurve von *Tryp. brucei* aus Zululand und aus Uganda. Ich bezeichne also meinen Stamm Kibunga nicht etwa als *Trypanosoma rhodesiense*, sondern als *Trypanosoma brucei* und halte den weitgehenden Polymorphismus, wie er sich in den Kurven ausdrückt, für charakteristisch für diesen Stamm.

Auch TAUTE [1]) hat bereits solche Stämme aus Tieren beschrieben.

Das Experimentum crucis wäre, Tiere, die mit *Tryp. brucei* infiziert sind, von im Laboratorium gebrüteten *Glossina morsitans*

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 73 1913 p. 556.

stechen zu lassen und diese Fliegen nach etwa 4 Wochen erst an einem für beide Trypanosomenarten empfänglichen Tier und dann an einem Menschen saugen zu lassen. Doch dürfte dieser Versuch wohl kaum durchführbar sein.

Abgeschlossen im Juni 1913
in Makatumbe (Deutsch-Ostafrika).

Nachtrag.

Inzwischen hat Taute durch seine Selbstversuche gezeigt, daß weder der von ihm aus Antilopen noch der von einem spontan erkrankten Hunde gewonnene Stamm für den Menschen pathogen sind, und zwar weder bei direkter Verimpfung noch bei Übertragung durch *Glossina morsitans*, die im Laboratorium aus Puppen gezüchtet worden waren. Einen Vorversuch mit seinem eigenen Serum scheint Taute nicht angestellt zu haben, seine Stämme stimmen einerseits mit Kinghorn u. Yorke's, andererseits mit Bruce's Stämmen in bezug auf die Kurven überein.. Demnach gilt jedenfalls für die von Taute benützten Stämme, daß sie *Tryp. brucei* und für den Menschen nicht pathogen sind. Es wird jetzt Sache der englischen Forscher sein, ihre Stämme auf Pathogenität für den Menschen zu prüfen; hierzu muß der Tierversuch mit menschlichem Normalserum herangezogen werden; er wird genügen, um über die Frage der Menschenpathogenität Aufschluß zu geben. Erst dann, wenn nachgewiesen ist, daß unter den Wildstämmen solche menschenpathogene Stämme sich finden, werden wir uns genötigt sehen, die Frage, wie diese Quelle des Ansteckungsstoffes zum Versiegen zu bringen sei, wieder aufzunehmen. Im selben Sinne äußert sich auch Kleine.[1])

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 77 1914 p. 184.

Erythropsis agilis (R. Hertwig).

Par

E. Fauré-Fremiet,
Préparateur au Collège de France (Paris).

(Avec Planche 1 et 12 figures dans le texte.)

Richard Hertwig décrivit en 1889 un microorganisme marin dont il ne put observer qu'un seul exemplaire, d'aspect paradoxal. Cet organisme problématique, qu'il nomma *Erythropsis agilis* et qu'il considéra comme un Protozoaire voisin des Infusoires, est de forme irrégulièrement sphérique (Fig. 2); la face que l'on peut considérer comme ventrale est parcourue par un sillon médian; à la droite de celui-ci se remarque une protubérance prolongée à son sommet par une sorte d'éperon apical; à gauche se trouve un „œil“ ou plus exactement un énorme stigma comprenant une partie pigmentée cupuliforme et une masse transparente, sphérique, lamellée, comparable à un cristallin. A côté de l'éperon se trouve une sorte de calotte aplatie, terminale, entourée par un sillon parcouru lui même par un filament spiralé; enfin, à la partie inférieure du corps un appendice contractile et cylindrique prend naissance au fond du sillon médian; c'est la queue dont la longueur peut atteindre plus de quatre fois celle du corps. R. Hertwig a comparé la calotte de l'*Erythropsis* au disque d'une Vorticelle, et sa queue au pédicule de celle-ci.

Carl Vogt en janvier 1889, dans une courte note parue dans le Zoologischer Anzeiger soutint l'idée que l'*Erythropsis*, qu'il n'avait pas observé lui même, était bien réellement une Vorticellide, telle que le *Spastostyla sertularium* trouvé dans le golfe de Naple par Géza Entz, laquelle aurait avalé l'œil d'une Méduse telle qu'une *Lizzia* p. ex. Mais peu après, au mois de septembre de la même année, une note de E. Metschnikoff, publiée dans le même périodique

vint montrer que l'*Erythropsis* était bien un organisme particulier, et formuler une nouvelle hypothèse sur la nature de ce singulier Protozoaire. En effet, en 1872 Metschnikoff avait trouvé dans les résidus d'une pêche planktonique faite dans l'Atlantique près de Funchal un individu presque identique à celui observé plus tard par Richard Hertwig et possédant comme celui-ci un „œil" et un long prolongement cylindrique rétractile. Critiquant l'opinion de Hertwig, Metschnikoff montre que le prolongement contractile de l'*Erythropis* est bien différent du pédicule d'une Vorticelle, mais qu'il ressemble d'autre part aux gros tentacules suceurs de l'*Ophriodendron abietinum*; et c'est dans le groupe de Acinetiens qu'il propose de le classer.

En 1896, dans le premier volume de leur traité de Zoologie concrète Delage et Hérouard décrivirent *Erythropsis agilis* en appendice aux Dinoflagellate. En effet, se basant sur les descriptions de Hertwig et de Metschnikoff, ils admirent, sans l'avoir vu eux même, que ce Protozoaire pourrait être un Peridinien aberrant.

„Son œil, disent-ils, qui s'oppose à son admission chez les Vorticelles, aussi bien que chez tout autre Cilié, offre une ressemblance frappante avec celui de *Pouchetia*. Son sillon vertical est absolument celui d'un Peridinien. La gouttière représente le sillon transversal placé très haut comme cela arrive souvent. Le filament en ressort à boudin n'a rien de commun avec une zône adorale tandis qu'il représente exactement le fouet transversal d'un Peridinien (il faut noter cependant que Hertwig n'est pas très affirmatif sur la question de savoir si la portion qui occupe la gouttière est ou non continue avec celle qui est logée dans la partie supérieure du sillon longitudinal, et que ce fouet, par une exception unique, suivrait le sillon de gauche à droite). Enfin le gros appendice serait le fouet vertical. Il a les connections et le mode d'action de cet appendice dont il ne diffère que par sa grosseur. C'est là certainement un caractère assez exceptionnel pour faire hésiter, mais la différence n'est guère moindre avec un pédoncule de Vorticelle ou avec un suçoir d'Acinetien. Enfin remarquons que les différences peuvent s'expliquer peut-être aussi en partie par la très insuffisante connaissance que l'on a de ce curieux animal."

C'est en 1904 seulement qu'un nouvel individu de cette espèce fut retrouvé dans le Plancton de l'étang de Thau cette fois; Pavillard, qui fit cette observation, fut aussitôt frappé par l'étroite ressemblance que montrait l'*Erythropsis* avec certaines espèces du genre *Pouchetia* et put ainsi vérifier l'hypothèse de Delage et Hérouard

en démontrant que ce singulier Protozoaire est bien réellement un Péridinien. „La présence d'un appendice caudal volumineux, écrit-il, est certainement le caractère la plus remarquable de ce curieux organisme. Cet appendice prend naissance au fond d'une profonde excavation de la région postérieure du corps; il paraît formé d'un protoplasma homogène, à peine grisâtre comme le reste du corps, mais recouvert d'un grand nombre de petites papilles un peu plus foncées. Autour de l'excavation protectrice se trouve une masse jaunâtre, lobée, comparable à celles que Schütt décrit sous le nom de „corps jaunes". L'appendice est doué d'une extraordinaire mobilité; il se projette au dehors avec une extrême violence et une rapidité presque instantanée; revenant sur lui-même avec une égale vitesse, il est de nouveau dardé un grand nombre de fois sans repos appréciable. De temps en temps, la projection est lente, il s'allonge alors peu à peu et n'atteint qu'une longueur plus réduite; à l'état de rétraction complète il se loge entièrement dans l'excavation postérieure. L'individu observé mesurait 55 μ de long; l'appendice seul atteignait au moins 250 μ dans la plus grande extension, soit 5 fois la longueur du corps."

Depuis l'observation de Pavillard, qui établissait définitivement la position zoologique de cette espèce, Collin (1912) signale qu'un nouvel individu a été observé pendant des manipulations d'élèves à la station zoologique de Cette, et mon collègue et ami Chatton m'a dit en avoir un exemplaires à Banyuls.

L'*Erythropsis agilis* de Hertwig est donc bien une espèce réelle; mais ses représentant semblent excessivement rares, puisque cinq individus seulement furent observés en quarante ans. Il faut remarquer néanmoins que l'extrême fragilité de cet organisme est une sérieuse difficulté pour son étude, et que Schütt a décrit comme *Pouchetia* des Gymnodiniens qui pourraient être tout simplement des *Erythropsis* mutilés. Quoi qu'il en soit, j'ai eu la bonne fortune, en septembre 1913 de pouvoir récolter dans la baie du Croisic et observer vivants une vingtaine d'*Erythropsis*. On verra dans cette note que mes observations vérifient en grande partie celle de Pavillard.

Description — orientation.

Les auteurs qui se sont occupés d'*Erythropsis* orientent ce Péridinien de telle manière que l'appendice érectile que je nommerai le „dard" soit en position postérieure. Dans ce cas la partie renflée du corps de l'animal, qui entoure le dard comme un étui, est la

partie postérieure; la calotte de Hertwig est la partie antérieure, et le sillon longitudinal caractérisant la face ventrale, le stigma se trouve situé à gauche. Le sillon hélicoidal transverse délimite la calotte antérieure en prenant naissance dans le sillon longitudinal au dessus du stigma puis en se dirigeant à gauche et en arrière; contournant la face dorsale, il revient à droite et en avant, s'infléchit postérieurement sur la face ventrale et vient rejoindre le sillon longitudinal au dessous de stigma.

Si l'on considère l'*Erythropsis* ainsi orienté, on voit comme le font remarquer Delage et Hérouard, que le dard occupe anatomiquement la place du flagelle longitudinal des *Pouchetia* p. ex.; mais si l'on examine la structure de cet organe, on observe qu'il diffère encore plus d'un flagelle que le tentacule d'une Noctiluque et qu'il est impossible d'homologue de la sorte un appareil aussi particulier. D'autre part, les mêmes auteurs constatent que par une remarquable exception dans le groupe des Péridiniens,[1]) le flagelle transversal de l'*Erythropsis* suit le sillon hélicoïde de gauche à droite; c'est à dire que prenant naissance au point où le sillon transverse rejoint le sillon médian au dessous du stigma, il remonte celui-ci vers la droite, contourne la face dorsale, et revient à gauche se terminer librement au dessus du stigma. Ces deux faits sont assez étranges et l'on peut se demander si ce curieux Protiste n'a pas été représenté par ses observateurs dans une fausse orientation.

Supposons en effet que l'on retourne l'*Erythropsis* bout pour bout en sorte que le dard soit en position antérieure; il en résulte premièrement que est appendice ne peut plus être homologué au flagelle longitudinal, et qu'il apparaît comme une différenciation tout à fait spéciale, ce qui demeure conforme à la réalité; et secondement que le flagelle transversal se trouve comme chez presque tous les Péridiniens tourner de droite à gauche en décrivant une hélice sénestre descendante. Il n'est pas douteux que l'orientation inverse proposée par Hertwig ne repose sur l'idée d'une comparaison possible entre le dard et un pédoncule de Vorticelle, et qu'elle ait incité Delage et Hérouard à homologuer le dard au flagelle longitudinal; mais vu le peu de détails précis relatif à la structure de l'*Erythropsis* de telles raisons sont insuffisantes et je prendrai comme base de ma description l'orientation proposée plus haut, ce Peridinien étant représenté verticalement, la calotte postérieurement et l'appendice érectile antérieurement.

---

[1]) On sait cependant (Mangin) que de telles exceptions existent dans ce groupe.

Forme générale. La taille de l'*Erythropsis agilis* est très variable; j'ai observé sur une vingtaine d'exemplaires, des individus longs de plus de 100 μ et larges de 60, d'autres longs de 50 μ et larges de 40. Les gros individus présentent une coloration rose franc très intense, tandis que les petits peuvent être parfaitement incolores.

La forme du corps se ramène à celle d'un ovoïde irrégulier, l'extrémité antérieure étant globuleuse, et la postérieure aplatie et souvent oblique. Avant de décrire les détails cytologiques particuliers à ce micro-organisme, c'est à dire son cytoplasma et son noyau, le pigment rose, le stigma et le dard, il faut examiner en détail la disposition des sillons et des flagelles afin d'en pouvoir discuter l'homologation (Fig. 1).

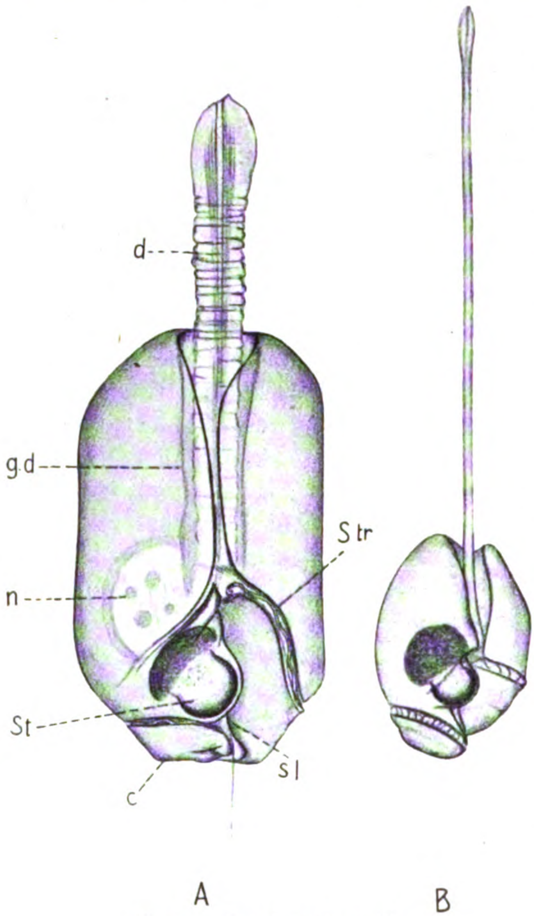


Fig. 1. *Erythropsis agilis*.
A, grand individu observé *in vivo* et vu par la face ventrale. *Sl*, sillon longitudinal continué par la gaîne du dard *gd*. *Str*, sillon transverse hélicoïde. *C*, calotte antapicale. *St*, stigma. *d*, dard retracté. *n*, noyau. *B*, petit individu avec le dard en demi extension.

Comme tous les Péridiens, l'*Erythropsis* possède un sillon longidutinal, axial ou médian qui caractérise la face ventrale de l'organisme, et un sillon hélicoïde transversal qui sépare la région antérieure, terminée par le pôle apical, de la région postérieure, peu développée ici, et correspondant au pôle antapical. L'*Erythropsis* est nu; c'est à dire que son cytoplasma n'est recouvert ni par une membrane complexe

comme chez les Péridiniens proprement dits, ni par une pellicule différenciée; il appartient ainsi au groupe des Gymnodiniens, comme la forme *Pouchetia* qui en est très voisine. Il en résulte que les sillons ne présentent aucun caractère de rigidité et que, bien que représentant une structure absolument permanente sauf en cas d'enkystement, ils sont d'une extrême fragilité; il suffit que l'*Erythropsis* subisse un début de cytolyse pour que le corps devienne globuleux et que tous les sillons s'effacent; aussi leur étude est elle assez délicate.

Le sillon longitudinal, si nous le considérons d'avant en arrière, débute vers le milieu de la face ventrale du corps, à la partie inférieure d'une cavité élargie et tubulaire qui sera décrite sous le nom de gaîne du dard; il se dirige en arrière suivant une direction médiane, puis il s'incurve vers la gauche, s'inféchit légèrement en S et vient se terminer au pôle antapical. Le bord gauche de ce sillon est lisse; mais chez l'exemplaire figuré par Hertwig (Fig. 2) après l'action d'un réactif fixateur il est irrégulier et porte un fort mamelon, le „Sporenträger" terminé lui même par un éperon, „sporn" sur l'interprétation duquel nous reviendrons plus loin; le sillon axial lui même est d'ailleurs complètement déformé chez cet individu. Le bord droit du sillon est plissé et porte une protubérance dans laquelle se trouve enfermé le stigma; sur un individu vu par la face ventrale, cette protubérance s'étend jusque vers le côté droit de cette face et jusqu'au sillon transverse, de sorte qu'elle cache en partie le sillon médian. Au dessous de cette protubérance stigmatique, le dit sillon reçoit l'extrémité du sillon transversal qui limite la calotte antapicale, et son côté droit est formé par un repli de cette calotte.

Le sillon transversal ou hélicoïde commence à la partie supérieure du sillon longitudinal et à droite de celui-ci; chez les petits individus il contourne en descendant le côté droit du corps, puis la face dorsale, reparaît à gauche et passant sur la face ventrale au dessous de stigma se termine tout près du pôle antapical; il dessine alors une spirale très régulière; chez les individus de grande taille, la direction générale du sillon est à peu près la même, mais après s'être écarté du sillon médian, il descend rapidement et presque parallèlement à celui-ci sur la face ventrale, avant de contourner le coté droit du corps et de se terminer par une spire régulière en débouchant sur le bord gauche du sillon axial. Le bord inférieur ou droit de ce sillon est bordé par une mince lèvre saillante.

L'origine du sillon transversal est élargie et se confond avec

celle du sillon londitudinal d'une port et de la gaîne du dard de l'autre; il existe en ce point une sorte d'infundibulum à la fois large et peu profond, qui est le lieu des insertions flagellaires.

Le flagelle transversal naît en un point situé un peu à droite et postérieurement dans cette cavité et, plus ou moins ondulé ou tordu en vrille, parcourt toute la longueur du sillon hélicoïde et se termine librement à son extrémité; ce flagelle est gros, bien visible, et son point d'origine, je crois, ne saurait être discuté; Hertwig d'ailleurs, a nettement figuré le sens de son enroulement autour de la calotte, dans le sillon transversal, ainsi que son extrémité libre vers le pôle antapical de l'organisme.

En ce qui concerne le flagelle longitudinal, les données relatives à son existence elle-même sont malheureusement insuffisantes. Si ce flagelle existe, son point d'insertion doit être voisin de celui du flagelle transversal, et cette condition étant réalisée en ce qui concerne le dard, Delage et Hérouard ont pensé que celui-ci le représentait; mais nous avons vu, et nous y reviendrons, que toute comparaison entre ces deux organules serait insoutenable. Etant donné le sens du flagelle et du sillon hélicoïde, on a vu que l'*Erythropsis* devait être logiquement orienté le dard en haut; dans ce cas le flagelle axial doit suivre le sillon longitudinal dans la direction opposée, c'est à dire vers le pôle apical, ce qui n'est pas démontré.

Deux faits sont à retenir cependant; 1° je n'ai jamais observé que le dard soit accompagné d'un flagelle coexistant avec lui dans sa gaîne; 2° j'ai constaté l'existence d'une extrémité flagellaire de direction axiale au pôle antapical; malheureusement, les difficultés que l'on rencontre dans l'observation d'un organisme tel que l'*Erythropsis* ne m'ont point permis de suivre son trajet.

Pavillard a figuré lui aussi une extrémité flagellaire au pôle antapical de son individu (Fig. 10 p. 40); mais sa figure n'est guère explicite; ce flagelle est ondulé et paraît suivre le sillon hélicoïde détaché à son extrémité distale du corps cellulaire; on peut donc se demander si l'extrémité que j'ai pu observer moi même, ne serait par tout simplement celle du flagelle transversal. L'exemplaire de Hertwig d'autre part (Fig. 2), montre un détail intéressant; le „Sporenträger“ et son éperon. Ces deux formations n'ont pas été vue par Metschnikoff non plus que par Pavillard ni par moi même. Le „Sporenträger“ se trouve à gauche du sillon longitudinal, probablement au point de jonction avec le sillon transversal, et l'éperon (Sporn) se trouve a son sommet et affecte l'aspect un petit appendice vermiculaire

incurvé. Sougeant que l'*Erythropsis* de Hertwig était altéré, on peut supposer que l'éperon représente le flagelle axial déformé et recourbé; il ne peut en effet représenter le flagelle hélicoïde nettement figuré autour de la calotte. Si cette supposition est exacte, l'insertion de ce flacelle serait bien à côté de celle du fouet hélicoïde, c'est à dire à l'origine antérieure du sillon médian.

En dehors de deux sillons caractéristique, l'*Erythropsis* possède un sillon accessoire et la gaine du dard. Le sillon accessoire, peu profond, est une sorte de ride superficielle située à droite du sillon axial, prenant naissance en face de l'origine du sillon hélicoïde et

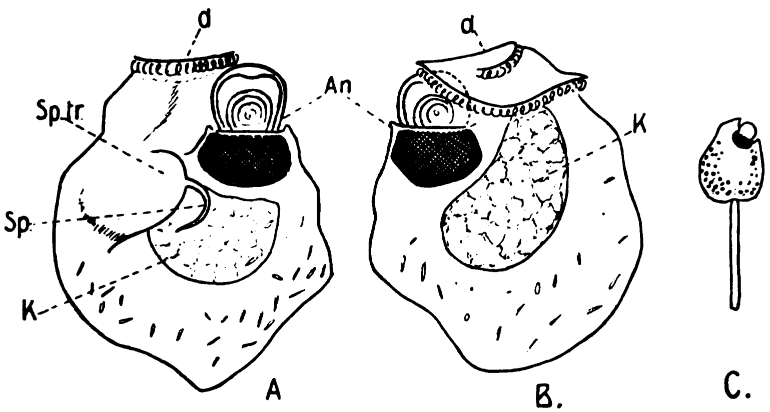


Fig. 2. *Erythropsis agilis* d'après Hertwig.
A, individu vu par la face ventrale. *d*, calotte avec le flagelle transversal helicoïde. *An*, œil. *Sptr*, „Sporenträger". *Sp*, „Sporn". *K*, noyau. *B*, le même vu du coté gauche. *C*, le même *in vivo* faiblement grossi avec le prolongement tentaculiforme.

suivant sur la face ventrale un chemin symètrique par rapport à celui-ci; ce plissement s'arrête avant d'atteindre le côté droit du corps; il passe au dessous ou bien à la hauteur du stigma, et chez les gros individus il est accompagné de quelques petits plissements parallèles qui donnent au bord droit du sillon longitudinal un aspect godroné.

La gaîne du dard est une large cavité à peu près cylindrique orientée de bas en haut et légèrement inclinée d'avant en arrière, entourée latéralement par la masse cytoplasmique de la moitié antérieure du corps qui la ferme en avant par deux lèvres non jointes. Cette cavité, largement ouverte à son extrémité périphérique commence à l'origine des trois sillons longitudinal, transversal et accessoire. L'extrémité proximale ou centrale de cette gaîne est occupé par la base du dard.

Etude cytologique.

C y t o p l a s m a. Le cytoplasma d'*Erythropsis* est un système optiquement homogène et dans la masse duquel il est impossible de distinguer la moindre structure aussi bien à l'examen par transparence qu'a l'exament ultra-microscopique. Il paraît dans ce dernier cas parfaitement obscur (Fig. 3).

Le cytoplasma de ce Gymnodinien ne renferme à l'état normal aucune inclusion; je n'y ai jamais distingué de chromoplastes quelconques, mais Pavillard a vu chez son exemplaire des „corps jaunes" analogus à ceux décrits par Schütt chez divers Péridiniens. Je n'ai jamais pu distinguer *in vivo*, non plus qu'après fixation, l'existence d'un chondriome différencié sous forme de grains ou de filaments, et l'action des réactifs se borne à précipiter finement ce plasma homogène en un granulum dense. Hertwig cependant signale la présence de petits bàtonnets réfringents comparables à des Bactéries et distribués irrégulièrement dans le corps de cette organisme.

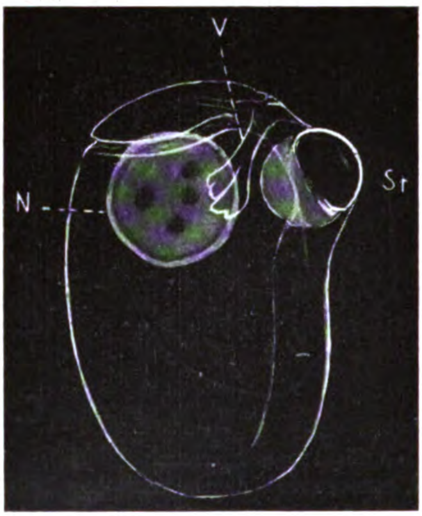


Fig. 3. *Erythropsis agilis* examiné *in vivo* à l'ultramicroscope. Le cytoplasma est un gel amicronique. *N*, noyau opalescent, sauf les nucléoles obscurs. *St*, stigma. *V*, vesicule sac (?). (Cet exemplaire a perdu son dard.)

Le cytoplasma d'*Erythropsis* n'est séparé de l'extérieur par aucune membrane différenciée, par aucune pellicule séparable optiquement; observé dans l'eau de mer à l'ultra microscope la surface de séparation paraît très brillante.

P i g m e n t e t l i p o ï d e s. En dehors du pigment brun constituant la cupule du stigma, le cytoplasma de l'*Erythropsis* renferme généralement, et surtout chez les gros individus, un pigment rose tout à fait semblable à celui que l'on observe chez les *Pouchetia*.

Le pigment rose est insoluble dans l'eau et soluble dans tous les solvants des graisses; il appartient donc à la catégorie des lipochromes, mais fait curieux, dans les conditions normales, ce

pigment est entièrement dissous dans le cytoplasma et celui-ci vu avec l'éclairage ultra microscopique ne montre aucune granulation.

Lorsque l'*Erythropsis* subit un début de cytolyse on voit le pigment se rassembler à la surface du corps qui paraît entouré d'une couche réfringente fortement colorée en rose (Fig. 4). A partir de ce moment, l'équilibre du système cytoplasmique est changé; le système homogène primitif est devenu un système hétérogène, biphasique comme le cytoplasma d'un certain nombre d'Infusoire (voir Fauré-Fremiet 1912).

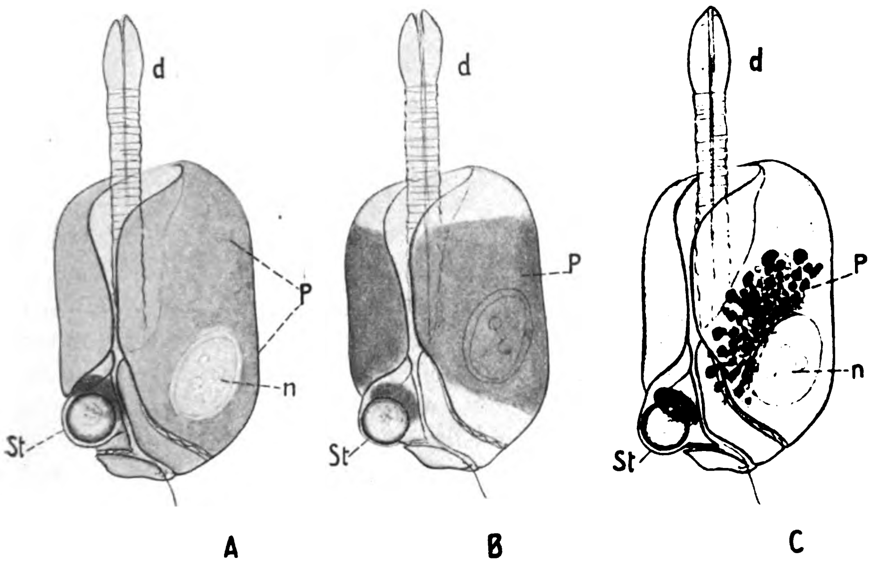
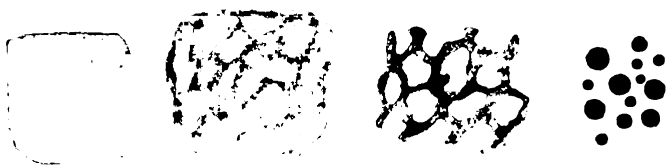


Fig. 4. *Erythropsis agilis in vivo.*
A, *B*, *C*, trois stades successifs correspondant au début de phénomènes cytolitiques. *A*, le pigment est diffus dans tout le cytoplasma (comme Pl. 1 fig. 1 et 2). *B*, séparation d'une couche lipoïde superficielle où se concentre le pigment. *C*, formation d'un amas de gouttelettes lipoïdes colorées au milieu de la masse cytoplasmique (érythrosomes de Schütt).

Cet état nouveau est instable; tandis que les phénomènes cytolytiques continuent, on voit la couche pigmentée se désagréger en un réseau réfringent, fortement coloré, qui apparaît dès lors comme formé d'une substance visqueuse d'aspect lipoïde et nettement distincte du cytoplasma devenu incolore; la transformation s'accentue davantage, le réseau se fragmente en travées irrégulières (Fig. 5), et celles-ci se concentrent bientôt en gouttelettes huileuses d'un rose intense; celles-ci peuvent rester à la périphérie du cytoplasma, ou se masser vers le centre en formant une sorte de figure radiée (Fig. 4).

Ces globules sont très solubles dans les solvants des graisses tels que l'alcool, le chloroforme, l'acétone; le peroxyde d'osmium les colore en brun; les colorants vitaux tels que le bleu de Nil ne les teignent pas; ils présentent donc quelques caractères des graîsses neutres.

Ces faits, qui ne sont pas particulier à l'*Erythropsis* et que j'ai pu retrouver identiques chez *Pouchetia rosea* Schütt doivent évidemment s'expliquer par une variation des conditions d'équilibre entre les constituants du cytoplasma.



A B C D

Fig. 5.

A, *B*, *C*, *D*, stade successifs de la séparation des lipoïdes cytoplasmiques et de la formation d'un réseau puis de gouttelettes colorées.

On a vu que le cytoplasma d'*Erythropsis* est dans les conditions normales parfaitement homogène; c'est un gel amicronique (Fig. 3); mais ce gel, outre l'eau et des albuminoides précipitables par les réactifs fixateurs, renferme certainement des lipoïdes, et contient en solution le pigment rose, cependant insoluble dans l'eau. Il faut donc admettre qu'il existe entre les lipoïdes cytoplasmiques, invisibles à l'état d'éléments figurés tels que des gouttelettes, et les albuminoïdes du cytoplasma, une liaison assez étroite pour que le pigment rose, soluble dans les lipoïdes seulement, paraisse totalement dissous dans le cytoplasma. La cytolyse détruit cette liaison du gel albuminoïde avec les lipoïdes et l'équilibre du système se trouve changé. Le pigment agit ici comme un colorant vital naturel capable de déceler toutes les étapes de la séparation des lipoïdes et de la formation spontanée et *in situ* de gouttelettes graisseuses, et cela sans l'intervention d'aucun réactif. Il semble d'ailleurs que l'interventions des liquides fixateurs puisse également déterminer un tel phénomène, et celui-ci est intéressant au point de vue cytologique. La question des conditions d'équilibre entre les divers constituants du protoplasma, si l'on considère en particulier les albuminoïdes, les lipoïdes, les sels et l'eau est en effet un important problème de physiologie cellulaire auquel se rattache étroitement la question morphologique. On sait que les mélange de cholestérine et d'acides gras sont perméables à l'eau et que certain liquides organiques, tels que le serum

sanguin, peuvent contenir une assez forte proportion de lipoïdes non figurés, et en quelque sorte dissous; Mayer et Schaeffer ont montré que le rapport entre les quantités d'acides pur et de cholestérine contenus dans un protoplasma varie dans une certaine mesure comme la quantité d'eau que renferme celui-ci et comme celle qu'il peut absorber par imbibition, l'action des différents sels étant d'ailleurs à considérer. S'il est impossible de connaître la composition du cytoplasma de l'*Erythropsis* et la nature des phénomènes cytolytiques dont il est le siège lorsque cet organisme est placé dans les conditions anormales propres à l'observation, il est intéressant de pouvoir les rattacher à des faits connus, c'est à dire aux variations de l'équilibre de ces constituants.

La séparation des lipoïdes cytoplasmiques, l'hétérogénisation d'un cytoplasma normalement „monophasique“ peut aussi s'observer chez les *Pouchetia* contenant le même pigment rose, et les gouttelettes lipoïdes colorées qui en résultent ont été désignées par Schütt sous le nom de „érithrosomes“. Cet auteur a d'ailleurs observé que ces granules, qui n'ont évidemment aucune valeur morphologique, sont extrêmement polymorphes et labiles.

Les propriétés du pigment rose peuvent être facilement mises en évidence si l'on traite un *Erythropsis* enkysté par une solution d'acétone dans l'eau de mer, et l'expérience réussit également avec les kystes de *Pouchetia*.

L'acétone pénètre rapidement à travers la membrane kystique et dissous les corps gras cytoplasmiques en même temps que le pigment rose; le liquide compris entre l'organisme et la membrane kystique, plus riche en acétone que le cytoplasma, se charge donc de ces corps par un phénomène de partage et se colore avec intensité tandis que le cytoplasma pâlit considérablement; puis la membrane kystique se romp et le liquide intérieur se trouve au contact du liquide extérieur beaucoup moins riche en acétone par suite de l'évaporation; il en résulte la formation d'une phase acétone + lipoïde + pigment + eau insoluble dans l'eau de la préparation et formant de larges gouttelettes roses; l'acétone contenu dans ces gouttelettes diffuse peu à peu, il se forme des figures myéliniques, et finalement le pigment se précipite en granules rouges animés de mouvements Browniens dans l'eau de la préparation et dans le cytoplasma devenu lui même trop aqueux.

Noyau. Le noyau de l'*Erythropsis* est ovoïde et volumineux; il mesure jusqu'à 30 μ de diamètre et se trouve situé dans la moitié inférieure du corps, du côté dorsal.

Sa structure n'est point filamenteuse comme celle du noyau des *Pouchetia* et des Péridiniens en général; son contenu est essentiellement constitué par un liquide de structure colloïdale, opalescent à l'ultramicroscope (Fig. 3), renfermant quelques gros nucléoles réfringents et transparents, et quelques fois, de fins et rares filaments. Les colloïdes nucléaires sont précipités par les réactifs histologiques en un granulum fortement colorable par le vert de méthyle et les couleurs basiques.

Le noyau est enveloppé d'une membrane extrêmement épaisse (jusqu'à 3 μ), réfringente, grisâtre, fortement colorable elle aussi par les couleurs basiques, soluble dans l'acide acétique (Fig. 6). Je n'ai pu étudier ses réactions microchimiques, mais elle semble de même nature que celle qui enveloppe le noyau de certain *Gymnodinium*, ou celui d'un grand nombre de grosses cellules de l'*Ascaris*.

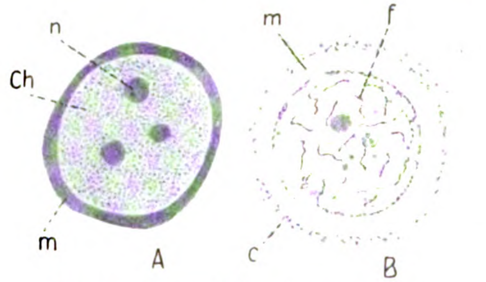


Fig. 6. Noyau d'*Erythropsis agilis*. *A*, examiné *in vivo*. *m*, membrane épaisse et réfringente. *ch*, très fins microsomes chromatiques. *n*, nucléoles. — *B*, le même traité par l'acide acétique. *c*, cytoplasma précipité. *m*, espace correspondant à la membrane dissoute. *f*, petits filaments chromatiques.

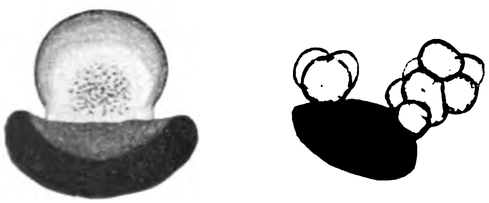
Je n'ai pas observé la division nucléaire chez *Erythropsis*.

Stigma. HERTWIG a décrit sous le nom „d'œil" un organule particulier identique par sa structure à celui décrit par POUCHET chez des *Gymnodinium* (*Pouchetia* SCHÜTT) et dénommé „stigma" chez ces mêmes espèces par SCHÜTT. Le rôle physiologique de cet organe étant inconnu je conserverai la dénomination de SCHÜTT, moins affermative que celle de HERTWIG.

Le stigma d'*Erythropsis* est formé de deux partes distinctes (Fig. 7 A); un globe transparent, très réfringent, situé au dessous d'une couche cytoplasmique périphérique qu'il repousse et dont il est comme enveloppée; c'est le „cristallin" de POUCHET. Et d'autre part une masse pigmentaire en forme de calotte („amas choroïdien" de POUCHET) située à la base du „cristallin". L'orientation du stigma est oblique, la calotte pigmentaire tournée antérieurement et à droite, le corps réfringent postérieurement et vers la gauche.

Le corps réfringent est un globule offrant l'aspect d'une „goutte d'huile" (HERTWIG) mesurant jusqu'à 15 μ de diamètre, de forme à

peu près sphérique, mais présentant une partie basale élargie, convexe, appliquée à l'intérieur de la calotte pigmentaire. Examiné *in vivo* ce corps paraît avoir une structure hétérogène concentrique, le centre en étant occupé par une masse moins réfringente, d'aspect granuleux. Après l'action des réactifs fixateurs cette structure s'accentue comme Hertwig l'a déjà remarqué; il a vu en effet que la solution d'acide osmique dissous une partie du corps réfringent qui se trouve réduit à une couche superficielle très réfringente, colorée en brun, épaissie au milieu, très amincie au point où elle rencontre la calotte pigmentaire; et à un noyau foncé, formé de couches concentriques.



A B

Fig. 7. Stigma d'*Erythropsis*.
A, structure normale montrant le corps réfringent, son noyau granuleux, et la cupule pigmentaire. *B*, stade de formation avec un corps réfringent formé de globules non encore fusionnés.



Fig. 8.
Stigma d'*Erythropsis* traité par l'eau iodée. Le corps réfringent est un partie dissous. La cupule pigmentaire est fortement colorée *en bleu*.

La substance constituant le corps réfringent n'est pas une substance grasse; bien qu'elle brunisse en partie sous l'action de OsO_4, elle paraît être insoluble dans les solvant des graisses: alcool, acétone, etc. L'iode en solution alcoolique la colore en jaune; en solution aqueuse iodurée il ne lui communique aucune teinte qui puisse être caractéristique. Le bleu Azur la colore *in vivo* en bleu pur. Toutes les solutions aqueuses altèrent fortement le corps réfringent ou même le dissolvent et le fait constaté par Hertwig doit être rapporté à ceci bien plus qu'à l'action de l'acide osmique lui-même.

Le mode de formation du corps réfringent n'est pas entièrement connu. Pouchet a montré que chez les Gymnodiniens, il résulte de l'accolement et du fusionnement de globules plus petits. J'ai constaté le même fait chez des *Erythropsis* enkystés, ou la structure polyglobulaire de corps réfringent est de toute évidence (Fig. 7 B).

La calotte pigmentaire est constituée par un amas dense de pigment brun rougeâtre enveloppant en forme de cupule plus ou moins hémisphérique la base du corps réfringent. Comme chez les

Pouchetia, cette masse n'est pas toujours nettement individualisée et paraît se constituer par la condensation progressive de granules pigmentaires; ceux-ci forment quelques fois en effet des amas irréguliers, ou bien la cupule elle même présente un aspect grossièrement réticulé avant de devenir homogène.

Il serait intéressant de savoir quel rapport peut exister entre le pigment rose cytoplasmique et le pigment brun du stigma; dans quelques cas la cupule est constituée en partie (Pl. 1 Fig. 6) par des granulations brunes et en partie par des granulations roses de même nuance que le pigment diffus du cytoplasma, ou que les „érythrosomes". Si l'on traite par l'acide acétique dilué le pigment brun (Pl. 1 Fig. 7), celui-ci est transformé rapidement en une multitude de globules roses, réfringents identiques aux érythrosomes formés pendant les processus cytolytiques.

On sait d'autre part que chez les *Pouchetia* la masse pigmentaire du stigma peut-être rouge et peu distincte en ce cas de érythrosomes. Peut-être le pigment brun n'est il qu'une modification du pigment cytoplasmique. Mais la nature de cette modification et les rapports existant entre le corps réfringent et la cupule pigmentaire sont évidemment inconnus, tout comme le rôle physiologique du stigma. Pouchet a d'ailleurs remarqué que les Péridiniens pourvus d'un „œil" ne sont ni plus ni moins sensibles à l'action de la lumière ou de la chaleur que ceux qui n'en possédent point.

Appareil excréteur. Peut être faut il comparer à la „vésicule sac" décrite par Schütt chez divers Péridiniens une différenciation cytoplasmique assez énigmatique que j'ai pu observer chez quelques *Erythropsis*. C'est une invagination ramifiée qui semble s'ouvrir par un canal dans le sillon longitudinal vers le point où celui-ci recoit l'extrémité inférieure du sillon hélicoïde. Cette invagination est limitée par une couche légèrement réfringente, nettement visible à l'ultra-microscope (Fig. 3). Elle est longue de 15 à 20 μ, et orientée de bas en haut et d'avant en arrière (Pl. 1 Fig. 2); au canal font généralement suite deux poches élargies, inégales, et bilobées elles même. Je n'ai jamais observé que cette invagination puisse se dilater ou se resserrer, et sa position ainsi que son aspect seul permettent sous toute réserve de la comparer aux „vésicules sac" de Schütt.

Dard. Hertwig a décrit sous le nom „d'appendice caudal" l'élément caractéristique du singulier Protozoaire qu'est l'*Erythropsis*, c'est à dire le dard. Il compare cet appendice cylindrique, contractile et formé d'une substance réfringente et homogène, à la

fibre musculaire du pédicule des Vorticelles. Pavillard décrit ce même organe comme formé d'un cytoplasma homogène, à peine grisâtre et recouvert d'un grand nombre de papilles un peu plus foncées (Fig. 10). En réalité cet appendice, très fragile d'ailleurs, possède une structure plus complexe.

On a vu plus haut que le dard prend naissance au fond d'une profonde excavation du corps de l'*Erythropsis* laquelle autour de lui, forme comme une gaîne (Pl. 1 Fig. 1 et 2). Lorsque cet appendice est allongé sa structure est difficilement visible; il apparaît comme une tige protoplasmique rigide, mince, terminée par un renflement long de 10 à 20 μ; lorsqu'il est rétracté, il dépasse antérieurement le corps de l'*Erythropsis* d'un demi longueur environ; sa longueur dépasse 100 μ et son diamètre 10 à 12 μ. Sa structure devient alors plus visible. L'axe du dard (Fig. 9) est occupé par une sorte de canal réfringent dont le diamètre ne dépasse pas 2 μ et qui paraît être entouré de fines fibrilles protoplasmiques longitudinales bien visibles *in vivo*. Vers l'extrémité distale le nombre de ces fibrilles semble augmenter; celles ci forment autour du canal une couche épaisse elle-même de 2 μ environ, mais qui s'atténue graduellement jusqu'à l'extrémité elle même; celle-ci, aigue et coupée obliquement, semble rigide.

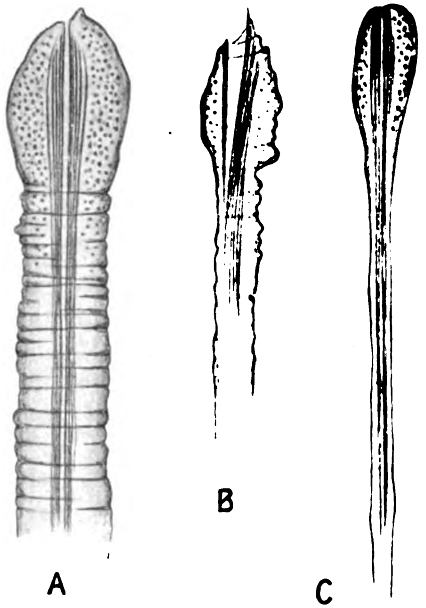


Fig. 9.
Extrémité distale du dard de l'*Erythropsis*. *A*, dard rétracté; aspect normal; on voit le canal central et son enveloppe fibrillaire, les replis transversaux de la pellicule, les granulations cytoplasmiques (mitochondries?). *B*, extrémité d'un dard montrant le canal ouvert longitudinalement et les fibrilles dissociées. *C*, extrémité du dard en extension.

Autour du canal central et des fibrilles longitudinales se trouve un manchon cylindrique de cytoplasma homogène ou finement granuleux; celle-ci est légèrement renflée à l'extrémité distale, en forme de gland; peut-être existe-t-il ici quelques granulations mitochondriales.

Enfin ce manchon cytoplasmique est enveloppé lui même d'une fine pellicule fortement et finement plissée dans le sens transversal.

Le mécanisme de l'allongement et de la rétraction brusque du dard est difficile à saisir. Peut-être les fibrilles axiales sont-elles contractiles; mais alors l'extension ne pourrait s'expliquer que par une brusque poussée cytoplasmique venant du corps de l'*Erythropsis*, et rien n'autorise une telle hypothèse, car aucune contraction, aucun courant cytoplasmique n'est visible dans l'organisme durant l'érection du dard. Ou bien encore l'extension s'expliquerait par l'élasticité de la pellicule qui, fortement dilatée dans le sens transversal pendant la rétraction se rétrécirait brusquement pendant l'érection; on constate en effet que le diamètre de l'appendice diminue considérablement lorsqu'il est allongé, et que sa pellicule semble peu extensible dans le sens longitudinal puisqu'elle est fortement plissée en rétraction.

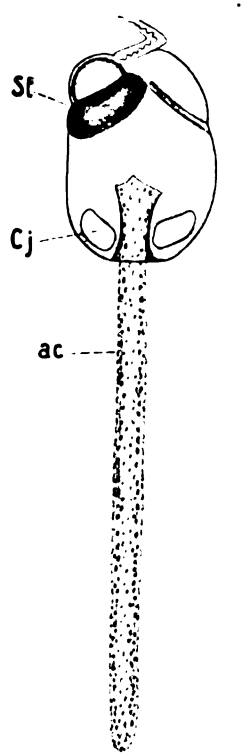


Fig. 10.
Erythropsis agilis d'après Pavillard. *St*, stigma. *Cj*, corps jaunes de Schütt. *ac*, appendice contractile.

Quelque soit le mécanisme de son mouvement, le rôle du dard demeure problématique; faut-il y voir un organe de locomotion? Mais les mouvements qu'il imprime à l'*Erythropsis* sont irréguliers, saccadés et peu étendus; ils semblent impropres à une progression rapide. Faut-il le considèrer comme un organe de fixation? Aucun fait ne justifie cette hypothèse. L'existence du canal axial fait songer à l'hypothèse de Metschnikoff qui avait comparé cet appendice à un tentacule d'Infusoire suceur, ou plutôt à la trompe qui, chez quelques espèces, porte ces tentacules; mais la présence d'un tel organe serait étrange chez un Péridinien, et l'absence totale d'inclusion digestive dans le corps de l'*Erythropsis* ne milite guère en faveur de cette supposition.

Au point de vue cytologique il est impossible d'homologuer un organule aussi différencié que le dard de l'*Erythropsis* à un flagelle; et si l'on considère sa structure, il est même impossible de le comparer au tentacule de la Noctiluque. On sait en effet que celui-ci est constitué par un cordon contractile différencié et par une sorte de gaine excentrique formée de cytoplasma granuleux, et j'ai montré

que ces granulations sont des mitochondries; mais le cordon contractile est un système tout à fait spécial, cloisonné transversalement et qui ne présente aucun rapport avec le faisceau fibrillaire cylindrique et axial de l'appendice de notre Gymnodinien.

Existe-t-il dans la groupe des Péridinien quelques differenciations cytoplasmiques comparables à ce dard? Il est difficile de répondre à cette question. O. Zacharias (1898) a vu un Péridinien lacustre voisin de *Gymnodinium palustre* Schilling, émettre des pseudopodes hyalins, ramifiés ou tentaculiformes, et prenant naissance au fond du sillon médian; malgré l'apparence donnée par une des figures de l'observateur de Plön le polymorphisme de ces pseudopodes ne permet guère une comparaison avec le dard de l'*Erythropsis*. D'ailleurs, l'émission d'expensions cytoplasmiques amiboïdes n'est point absolument rare chez les Péridiniens; Schütt en signale de nombreux exemples.

Pouchet a décrit sous le nom de *Gymnodinium pseudonoctiluca* une forme curieuse qui porte un long appendice tentaculiforme, et que cet auteur a considéré comme intermédiaire entre les Péridiniens et les Noctiluques. Ce *Gymnodinium* a été trouvé dans les pêches pélagiques faites aux environs de Concarneau aux mois de Juin et Juillet 1886 et décrit en 1889; Pouchet l'a retrouvé plus tard aux iles Feroë dans les pêches pélagiques faits à Thorshaven, et il a complété en 1892, grâce à ces documents nouveaux, la première description qu'il en avait donné (Fig. 11). Ce Péridinien n'a pas, a ma connaissance été revu depuis lors.

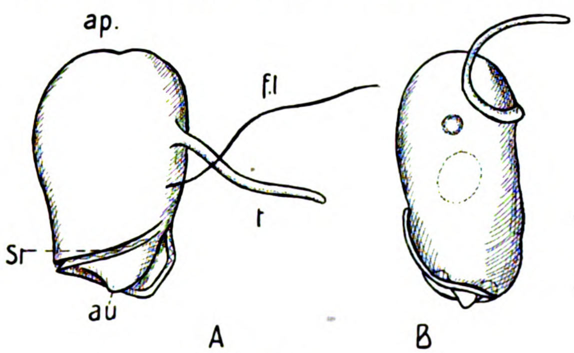


Fig. 11.
Gymnodinium pseudonoctiluca Pouchet (d'après l'auteur). *St*, sillon transversal. *fl*, flagelle axial. *t*, tentacule. *ap*, pôle apical. *au*, pôle antapical.

„Dans son apparence la plus commune, écrit Pouchet, l'être mesure 175 à 200 μ de long sur 75 à 80 μ de large. Il a la forme caractéristique des Péridiniens. . . . Le segment antérieur est allongé, bilobé, le postérieur, conique, effilé. Le sillon longitudinal est peu

distinct[1]); le sillon transversal, étroit, à bord très nets, rapprochés. L'extrémité antérieure ou gauche est moins accusée que la droite, et reportée un peu en avant comme dans *Gymnodinium gracile.* Toutefois l'écart est moins marqué, l'extrémité se trouvant elle même un peu infléchie en avant. Il en résulte que les deux extrémités du sillon transversal tendent à dessiner un angle dout le sommet tourné en avant correspond au point où ils se rencontreraient. Un très long flagellum s'insère vers l'extrémité antérieure du sillon longitudinal; le sillon transversal loge un second flagellum....

„Le cytoplasma hyalin contient: 1° des leucites colorés et fusiformes dont le grand axe se dipose dans la direction même des tractus; 2° des gouttelettes très réfringentes....

„Le noyau sphérique partage avec celui des Noctiluques cette particularité de ne présenter aucun filament nucléaire“.... „Contrairement à en qui est l'ordinaire chez les Péridiniens il paraît formé d'une substance homogène, hyaline“.... „Sur un individu traité par le picro carmin ... il offre trois nucléoles volumineux, sphériques“....

„Les individus présentant un tentacule ont été loin de composer la majorité de ceux que nous avons observés. Toutefois, ils se sont présentés assez nombreux; mais leur forme, comme nous l'avons indiqué, est alors irrégulière. Ils sont en général comprimée, le côté droit plus ou moins rapproché du côté gauche.

„Comme nous l'avons dit, le cône aboral se rétracte plus ou moins et jusqu'à disparaître; le sillon transversal persiste et dessine une crête limitant l'espèce de fente — en raison de la compression de l'être — dans laquelle l'extrémité aborale est plus ou moins enfoncée. Vers la face dorsale de l'être, le sillon, au point où il est comme plié en passant d'un des bords de la fente sur l'autre, dessine une sorte de bourrelet saillant. La présence du tentacule n'exclut pas celle du flagellum axial: il n'y a donc pas lieu d'envisager l'hypothèse, fort problématique en elle même, d'une homologation de ces deux sortes d'appendices cellulaires. Le flagellum axial parait prendre son insertion en arrière de l'insertion du tentacule“.

Pouchet a vu le tentacule inséré vers le milieu du corps du *Gymnodinium*, sur la face ventrale, un peu en avant du point de jonction des deux extrémités du sillon équatorial (Fig. 11); ses dimensions

[1]) Chez d'autres individus (1892) „le sillon longitudinal ou ventral est fortement accusé et se prolonge très loin sur l'éminence conique qui constitue l'extrémité postérieure“.

relatives sont celles du tentacule des Noctiluques; sa base d'insertion est légèrement élargie en forme de cône, son diamètre est partout uniforme, son extrémité est simplement atténuée. Cet appendice est constitué par un plasma hyalin; rempli de petites granulations foncées de grosseur uniforme. „Il nous a paru dans un cas, outre ces granulations, renfermer des leucites analogues à ceux du cytoplasma. Il ne présente jamais aucun mouvement; il est tantôt rectiligne, tantôt plus ou moins contourné et recourbé contre un des côtés de l'être".

„Une particularité constante est la présence en arrière du tentacule d'un autre prolongement très court inséré également dans le sillon ventral mais non rigoureusement sur le même plan". Son extrémité peut être arrondie ou cônique.

Pouchet a constaté que ce microorganisme est facilement polymorphe et altérable.

Cette longue description est intéressante parce que, au point de vue morphologique le *Gymnodinium pseudonoctiluca* est tout à fait comparable à l'*Erythropsis agilis* tel que nous l'avons orienté: même développement de la région antérieure, même réduction de la partie postérieure, même position du tentacule et du dard par rapport aux sillons et aux flagelles, même forme nucléaire enfin. Mais, bien que Pouchet ne nous fasse point connaître la structure intime du tentacule de son *Gymnodinium*, il est évident que celui-ci ne possède pas les mêmes caractères que le dard de l'*Erythropsis*. Celui-ci est-il une formation analogue plus différenciée? on ne peut encore répondre à cette question.

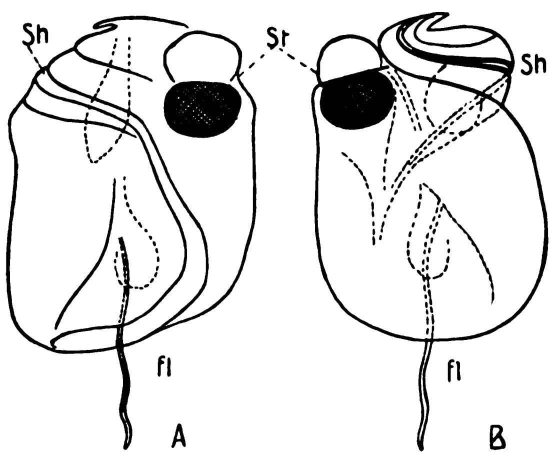


Fig. 12.
Pouchetia cornuta Schütt (d'après l'auteur).
St, stigma. *Sh*, sillon transverse hélicoïde. *fl*, flagelle longitudinal (?). — *A*, vu de face. *B*, vu de dos.

Il serait encore intéressant de comparer l'*Erythropsis* avec le *Pouchetia cornuta* de Schütt, auquel Pavillard l'identifie. La forme

générale de l'organisme, la position du stigma (qui fait défaut chez *Gymnodinium pseudonoctiluca*) sont identiques chez les deux espèces, mais Schütt oriente son *Pouchetia* comme Hertwig orientait l'*Erythropsis*, l'œil et la calotte antérieurement, la plus grosse masse du corps postérieurement, le flagelle transversal de droite à gauche; et cette espèce possède en effet, dans l'échancrure profonde qui correspond à la gaîne du dard chez *Erythropsis*, une sorte de gros flagelle légèrement ondulé, de diamètre assez fort, mais beaucoup moins considérable que celui du dard ou encore du tentacule de *Gymnodinium pseudonoctiluca* dont il semble morphologiquement occuper la place. Quel est l'exacte nature de ce gros flagelle? c'est ce qu'il faudrait examiner de près.

Enkystement. Comme un grand nombre de Gymnodiniens, l'*Erythropsis* est capable de s'enkyster; il perd son dard, puis s'enveloppe d'une fine membrane qui d'abord moule ses contours. Il est assez difficile de distinguer le kyste définitif d'un kyste de *Pouchetia*. Je n'ai pas observé de division.

Conclusions. C'est au cours de nombreuses pêches planctoniques effectuées dans la baie de Croisie pendant l'été 1913 avec M. le professeur Henneguy à bord de son yacht „Cytos“ que nous avons recueillis un nombre assez considérable d'*Erythropsis*. J'en ai observé une vingtaine, tandis que cinq individus seulement appartenant à cette espèce, étaient connus jusqu'à ce jour. Presque toujours, nous l'avons trouvé dans les mêmes conditions, en approchant de la côte à la marée montante et par mer houleuse. Dans ce cas, le Plancton contenait nombre de débris provenant des herbiers et de la zône des Fucus. On peut donc se demander si l'*Erythropsis* est bien un organisme pélagique, et s'il ne serait pas, plutôt, un habitant des fonds littoraux, vivant au milieu des Algues. Ceci expliquerait sa rareté apparentes, car son extrême fragilité rendrait presque illusoire sa recherches dans les touffes d'Algues, et sa présence dans le Plancton superficiel serait uniquement due au hasard des circonstances.

Il n'est pas douteux que cet être paradoxal ne soit un Péridinien comme l'avaient supposé Delage et Hérouard, et plus exactement un Gymnodinien comme l'a vu Pavillard. Il n'est également point douteux que l'*Erythropsis* ne soit extrêmement voisin des *Pouchetia* de Schütt et peut être du *Gymnodinium pseudonoctiluca* de Pouchet. Il n'est point douteux encore que son appendice tentaculiforme, le dard, n'ait aucun rapport morphologique avec un flagellum. Dans ces conditions, il semble que la seule orientation

logique pour l'*Erythropsis* soit celle que nous avons adoptée et dans laquelle la „calotte" de Hertwig occupe le pole antapical, le sillon et le flagelle transversal tournent de droite à gauche et le dard est dirigé antérieurement. Quant à cet appendice, il faut le considérer comme une différenciation d'ordre tout à fait spécial au point de vue cytologique, et de fonction inconnue; nettement distinct du tentacule de la Noctiluque il ne saurait être rapproché, et sous toutes réserves, que du tentacule de *Gymnodinium pseudonoctiluca* Pouchet.

Fevrier 1914.

Index bibliographique.

Collin (1912): Étude monographique sur les Acinétiens. Arch. de Zoolog. exper. et gen. T. 51.

Delage et Hérouard (1896): La cellule et les Protozoaires. Traité de Zoologie concrète T. 1. Paris.

Fauré-Fremiet (1912): Etude cytologique sur q. q. Infusoires Ciliés des Marais salants du Croisic. Arch. d'Anat. Microsc. T. 13.

— (1913): Sur Erythropsis agilis Hertwig. C. R. Acad. Sci. Paris. Octobre 1913.

Hertwig, R. (1885): Erythropsis agilis. Eine neue Protozoe. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 10.

Metchnikoff, Elie (1885): Zur Streitfrage über Erythropsis agilis. Zool. Anz. Bd. 8.

Pavillard, J. (1905): Recherches sur la flore pélagique (Phytoplankton) de l'étang de Thau. Thèse de Paris. Montpellier 1905.

Pouchet, C. (1885): Nouvelle contribution à l'histoire des Péridiniens marins. Journ. de l'Anat. T. 21.

— (1892): Cinquième contribution à l'histoire des Péridiniens marins. Ibid. T. 28.

Schütt, Fr. (1895): Die Peridineen der Plankton-Expedition. I. Teil. Ergebn. d. Plankton-Expedition. Kiel und Leipzig.

Vogt, C. (1885): Über Erythropsis agilis Rich. Hertwig. Zool. Anz. Bd. 8.

Zacharias, Otto (1899): Über Pseudopodienbildung bei einem Dinoflagellaten. Biol. Centralbl. Bd. 19.

Explication de la Planche 1.

Fig. 1. *Erythropsis agilis* vu *in vivo* par la face ventrale; le dard est rétracté. Le coloration rose dûe au pigment est uniforme; le cytoplasma ne renferme pas d'inclusion, pas d'érythrosomes.

Fig. 2. *Idem* vu par le face dorsale, le dard en demi extension. On distingue par transparence à coté du stigma le noyau et la vésicule sac (?).

Fig. 3 a, b, c. Trois stades de la précipitation du pigment dans une gouttelette acétone + pigment + lipoïde + eau, mise en présence de l'eau.

Fig. 4. Déstabilisation du système protoplasmique (cytolyse); formation d'un réseau lipoïde superficiel coloré par le pigment.

Fig. 5. Même phénomène; le réseau s'est fragmenté en gouttelettes (érythrosomes de Schütt).

Fig. 6. Cupule pigmentaire du stigma en voie de formation; réseau irrégulier en partie brun et en partie rose.

Fig. 7. Transformation du pigment brun de la cupule stigmatique sous l'action de l'acide acétique; formation de gouttelettes roses identiques aux érythrosomes.

(Laboratorio di Zoologia degli Invertebrati del R. Istituto di Studi superiori di Firenze, diretto dal prof. Daniele Rosa.)

Ricerche sul ciclo evolutivo di *Haplosporidium limnodrili* Granata.

Di

Leopoldo Granata.

(Con le tavole 2—4 e 7 figure nel testo.)

Indice.

		pag.
I.	Introduzione	48
II.	Materiale e tecnica	50
III.	La moltiplicazione dei nuclei	
	a) Aspetti dei nuclei in riposo	52
	b) Il processo di divisione	55
	c) I nuclei degli altri Aplosporidî	58
IV.	Schizogonia e gametogenesi	60
V.	Copulazione dei gameti	62
	a) Cariogamia ed epurazione nucleare	63
	b) La riduzione cromatica	64
VI.	Sporogenesi	65
VII.	La fase sessuata e la sporogenesi nelle altre specie	67
VIII.	Localizzazione del parassita — Azione sull' ospite — Modo d'infezione e di diffusione delle spore	69
IX.	Appendice	73
	Bibliografia	76
	Spiegazione delle tavole	78

I. Introduzione.

I risultati principali delle mie ricerche sul ciclo evolutivo degli Aplosporidi sono stati già resi noti in due precedenti comunicazioni: l'una (1913) riguardante il ciclo di sviluppo, l'altra (1914) il comportamento dei nuclei di *Haplosporidium limnodrili*, n. sp., parassita di *Limnodrilus udekemianus* Clap.

Scopo del presente lavoro è principalmiente quello di documentare i fatti da me stabiliti. Per la prima volta, dopo le ricerche di Caullery e Mesnil (1905) è stato possibile seguire in modo completo lo sviluppo di un *Haplosporidium*; ma le conclusioni che se ne possono trarre, per quanto riguarda una istemazione definitiva del gruppo, rimangono tuttavia molto incerte.

Gli Aplosporidi venivano nel 1910 esattamente definiti così da Léger e Duboscq (1910 pag. 218): „Protisti parassiti dei quali lo stadio più giovane è un germe mononucleato, che cresce moltiplicando i suoi nuclei. Il citoplasma si divide al termine dell' accrescimento per dare degli sporoblasti producenti finalmente spore a struttura semplice.“ Sotto il nome di spore si intendono ugualmente i germi nudi della fam. dei *Coelosporididae* e le spore a doppia membrana della fam. degli *Haplosporididae*.

Caullery e Mesnil (1905, p. 171 e seg.), basandosi sul fatto che l'accrescimento è accompagnato da una moltiplicazione nucleare e realizza uno stato plasmodiale, avvicinano anzitutto gli Aplosporidi ai Neosporidi, dai quali tuttavia si distinguono principalmente per la mancanza di capsula polare e per la struttura semplice della spora.

Molti Autori hanno accettato la collocazione, per quanto provvisoria, proposta da Caullery e Mesnil. Più recentemente Awerinzew (1910), Léger e Duboscq (1910), Poche (1913) hanno sostenuto al contrario l'esclusione degli Aplosporidi dagli Sporozoi.

Secondo Léger e Duboscq il gruppo degli Aplosporidi, così come è stato proposto da Caullery e Mesnil, non può sussistere, dati i suoi caratteri tanto poco limitativi, che „come un gruppo provvisorio e di attesa per forme eterogenee e di affinità indecise“; rappresenterebbe un gruppo razionale e durevole solo se limitato alla fam. degli *Haplosporididae*. Ma, in qualunque modo „non ha nulla di comune nè coi Telosporidi nè coi Cnidosporidi“ e deve quindi essere considerato come una classe autonoma.

Poche (1913) considera gli Aplosporidi come un ordine dei *Rhizopoda* (v. anche Awerinzew) comprendendovi *Scheriakovelloides*

(fam. *Scheviakovellidae*), *Oligosporulea* (fam.: *Haplosporidiidae*, *Coelosporidiidae*, *Bertramiidae*) e *Polisporulea* (*Neurosporidiidae* e *Rhinosporidiidae*). Il gen. *Paramixa* di CHATTON (1911) — uno „cnidosporidio senza cnidoblasto“, secondo la definizione dell' Autore, e il gen. *Anurosporidium* CAULLERY e CHAPPELLIER (1906), un „Aplosporidio“ nel quale CÉPÈDE (1911) ha rivelato la presenza di une membrana sporale di origine cellulare, sono riuniti in un Superordo: *Paramixiformes*, connesso coi Cnidosporidi.

É in base alle sue ricerche sullo sviluppo di *Anurosporidium pelseneeri* che CÉPÈDE ha ripreso recentemente la questione della posizione sistematica degli Aplosporidi.

Lo sviluppo di *Anurosporidium* presenta una fase schizogonica ed una fase sessuata: negli schizozoiti si formano macro- e microgameti che si accoppiano per dare origine a sporoblasti nei quali, per divisione ineguale del *syncaryon*, si trovano poi un grosso *nucleo sporoplasmico* che diventa il nucleo del germe, ed un piccolo *nucleo parietale* che diventa il nucleo delle membrana sporale.

Un comportamento simile si avrebbe secondo CÉPÈDE (1913) negli Aplosporidi, o, più precisamente, nel gen. *Haplosporidium*; e la prova di questo è cercata nelle figure stesse di CAULLERY e MESNIL. La fig. 11 di questi Autori (1905, Pl. XI) rappresenterebbe macro- e microgameti di *H. heterocirri;* nella membrana sporale il nucleo della cellula parietale sarebbe rappresentato dal corpo debolmente colorabile che si nota alla periferia delle spore stesse (v. specialmente spora di *H. Marchouxi*: Pl. XI fig. 31 e fig. 1 del testo).

CÉPÈDE crea un gruppo di *Acnidosporidi*, comprendente *Haplosporididae*, *Chytridiopsis* e *Paramixa*, caratterizzato della presenza di membrana sporale di origine cellulare e della mancanza di capsula polare. Gli *Acnidosporidi* si collegano ai *Cnidosporidi* per costituire una nuova sezione del Regno dei Protisti, i *Cytopleurosporea*, comprendente organismi a sporoplasma ordinariamente ameboide, con spore a parete cellulare, un ciclo schizogonico ed uno gamogonico precedente la sporulazione.

Già nella mia nota precedente (1913) io ho espresso, in base ai risultati delle mie ricerche, l'opinione che gli Aplosporidi debbano considerarsi come un gruppo autonomo che si distacca dai *Cytopleurosporea* per la mancanza del carattere principale, spora a parete cellulare, e si collega piuttosto coi Micetozoi. Ho accettato il gruppo degli Acnidosporidi, limitati al gen. *Paramixa* e al gen. *Anurosporidium* (corrispondente quindi alle *Paramixiformes* di POCHE) escludendone anche le *Chytridiopsis*, la cui posizione sistematica credo

sia ben lontano dall'esser definita: la presenza di una membrana sporale cellulare non è dimostrata e LÉGER e DUBOSCQ (1909), pur non escludendo in modo assoluto altre interpretazioni, ritengono di dover collocare queste forme piuttosto tra i Micetozoi inferiori che tra gli Sporozoi (v. anche POCHE p. 205). Una nuova forma studiata ultimamente da TRÉGOUBOFF (1913): *Chytridioides schizophylli*, sembra essere una forma di passaggio tra le *Chytridineae* e le *Chytridiopsis*, con le quali presenta affinità notevoli, pure mancando in modo evidente di nuclei alle pareti delle spore come delle cisti.

Non può essere mio compito discutere quì le affinità degli Acnidosporidi coi Cnidosporidi, e quindi il valore del gruppo dei *Cytopleurosporea*, quale è inteso da CÉPÈDE.

Gli Aplosporidi, se limitati al gen. *Haplosporidium*, ritengo presentino affinità maggiori coi Protofiti che con gli Sporozoi e debbano considerarsi come un gruppo intermedio tra questi ultimi e i Micetozoi.

Il gruppo degli Aplosporidi, quale fu stabilito de CAULLERY e MESNIL è composto di forme eterogenee e certo poco note, delle quali taluna ha già trovato posizione appropriata in altri gruppi più definiti: tale *Blastulidium paedophtorum* PÉREZ, riportato alle *Chytridineae* dopo che CHATTON (1908) ebbe dimostrato la presenza di flagelli nei germi; *Caelosporidium blattellae* CRAWLEY, riportato ai Micetozoi (gen. *Peltomyces*) da LÉGER (1909) ecc.; altre forme, sebbene ne sia stato ripreso lo studio (v. KONSULOFF 1912, 1914 e KING 1907 per *Bertramia*, ROBERTSON 1907, 1909 e PETTIT 1913 per *Ichtyhosporidium* ecc.) rimangono tutt'ora con affinità assai indecise.

La discussione completa non sarà evidentemente possibile se non quando queste forme saranno meglio note, sia dal punto di vista evolutivo sia da quello strutturale.

II. Materiale e Tecnica.

Delle cinque specie di *Haplosporidium* già note, quattro sono parassite di Anellidi marini; una sola (*H. Vejdovskyi*) è stata trovata in un Oligochete d'acqua dolce (*Mesenchytraeus flavidus*).[1])

La specie che forma oggetto delle presenti ricerche è parassita di *Limnodrilus udekemianus* CLAP.; ma riguardo alla specificità di questo

[1]) LÉGER (1908, nota a pag. 126) accenna incidentalmente di aver osservato *Haplosporidium* tipici in Oligocheti.

ospite posso dire solo che varî individui infetti risultarono appartenere a questa forma; non escludo la presenza, assieme all' *udekemianus*, di altre specie, e la possibilità che anche queste ospitino il parassita.

I *Limnodrilus* sono assai comuni nei dintorni di Firenze, e già da varî anni or sono, esaminando quelli di una certa località (Galluzzo) avevo notato la presenza di numerose infezioni: Actinomixidi, le interessanti *Myxocistis* di Mrázek, altre forme forse ancora ignote, e finalmente, in un solo individuo, un *Haplosporidium*. Si trattava di un individuo pieno di una enorme quantità di spore e di pochi altri stadî del parassita: sufficienti tuttavia per indicare l'interesse che avrebbe potuto presentarne lo studio, qualora l'infezione fosse stata sufficientemente estesa. La ricerca è stata poi attivissima ma negativa per vario tempo. Solo assai dopo, in un saggio di fango della medesima località (e sempre, poi, solamente in quella) ho trovato *Limnodrilus* con infezione molto abbondante: almeno un individuo infetto su dieci. Questo in Primavera. Quindi di nuovo l'infezione è scomparsa ed è stata ritrovata solo, e assai più limitata, ai principii dell' Inverno. Tuttavia è stato possibile fare numerose osservazioni a fresco e radunare una quantità sufficiente di materiale fissato. Le osservazioni a fresco sono state fatte sia sul vivo, schiacciando semplicemente il verme, sia su preparati volanti ottenuti lacerando il verme in Carminio acetico.

Quest' ultimo metodo, del resto molto usato, è assai conveniente: si possono avere preparati buoni per lo studio anche per 24 ore; la forma, a parte forse un poco di rigonfiamento, rimane conservata abbastanza bene; si ottengono, infine, discrete (per quanto tenui) colorazioni dei nuclei. Alcune delle mie figure sono state tolte da tali preparati.

Ho usato anche, sebbene limitatamente, preparati permanenti ottenuti per lacerazione, fissati e colorati con varî metodi; ma a questi ho preferito le sezioni.

Dopo numerosi tentativi sono arrivato a limitarmi a due fissatori, che sono del resto quelli più in uso per ricerche protistologiche: il liquido di Bouin modificato de Brasil (formol picro-acetico alcoolico) e il Sublimato alcoolico di Schaudinn. Ambedue mi hanno dato risultati generalmente buoni, malgrado qualche difetto: leggero gonfiamento prodotto dal primo, leggera coartazione dal secondo.

La colorazione delle sezioni è stata fatta principalmente con Ematossilina ferrica (unita o no a colorazioni di contrasto con Eosina, Fucsina o Verde-luce); quindi con Ematossilina Delafield, con una

buonissima Ematossilina all' allume di Rubidio usata in questo laboratorio, con varî preparati di Carminio.

Le figure sono state tuttavia, in massima parte, tolte da preparati colorati con Ematossilina ferrica.

III. La moltiplicazione dei nuclei.

a) Aspetti dei nuclei in riposo.

I nuclei di *Haplosporidium limnodrili* oltre che differenze di dimensioni da considerarsi, come vedremo, quali caratteristiche di fasi diverse del ciclo (nuclei grandi della fase schizogonica, nuclei piccoli della fase gamogonica), presentano, allo stato di riposo, differenze di aspetto assai sensibili, dovute principalmente alla disposizione dei varî elementi ed alla colorabilità più o meno accentuata della cromatina, che permettono di stabilire una serie di stadî successivi, dal momento della ricostituzione teleofasica all' inizio della profase.

La fase di riposo tipico è rappresentata dalle fig. 16 e 17 (vedi anche figg. 4, 5, 7, 8, 9, 11). Il nucleo ha forma tipicamente ovale, generalmente assai poco allungata; appare in sezione più o meno rotondeggiante, a seconda che è tagliato più o meno obliquamente.

La sua costituzione sembra essere, in massima, assai poco modificata dalla tecnica; tuttavia la descrizione sarà basata su osservazioni fatte sia a fresco, sia su materiale fissato e colorato.

Nel nucleo si distinguono:

1°. *La Membrana*, sottile, ma nettamente delineata, debolmente rifrangente sul vivo, tenuamente colorata nei preparati. Essa è sempre chiaramente visibile, a meno che non si tratti di materiale alterato: capita spesso di osservare dei plasmodî, specialmente a grandi nuclei, nei quali i limiti di questi, addossati gli uni agli altri, sono indefiniti; ma si tratta di alterazione dovuta al fissatore, o pure dell' inizio di un processo di involuzione dovuto tavolta a cause determinate. Nella fig. 6 per es. è rappresentato un parassita in via di degenerazione, inglobato da linfociti.

2°. *Il reticolo.* Si possono distinguere: il reticolo acromatico, a maglie più o meno ampie, con filamenti tenuissimi, e la cromatina, a granuli minuti sparsi o raggruppati in piccole masse o catenelle.

Sul vivo il reticolo appare assai nettamente, regolarissimo, con cromatina sotto forma di granuli brillanti. Sia con l'Ematossilina

ferrica, sia con la DELAFIELD o col Carminio è facile ottenere immagini esattamente reali.

Il succo nucleare riempie tutta la cavità tendendo la membrana, e dando così l'immagine di un nucleo vescicolare tipico. Una simile organizzazione è comune nei nuclei dei Protisti: i nuclei di *Haplosporidium* sono caratterizzati sopra tutto dallo stato di estrema suddivisione della cromatina.

3°. *Il cariosoma.* In una posizione generalmente determinata, all' equatore del nucleo, verso la periferia, il reticolo forma una cavità nella quale è contenuto un grosso nucleolo cromatico, al quale diamo il nome di cariosoma solo per ragioni di somiglianza morfologica coi cariosomi tipici dei nuclei di protisti. Esso appare infatti formato di due sostanze: l'una fortemente cromatica, l'altra assai meno. La parte cromatica costituisce una massa spugnosa, fortemente colorata in nero dall' Ematossilina Ferrica, in rosso dal Carminio, contenente nelle sue trabecole una sostanza che assume con una certa elettività i colori plasmatici: si tratta evidentemente della cromatina e della plastina dei cariosomi.

Gli aspetti più frequenti di questi corpi sono rappresentati dalle figg. 18 che corrispondono esattamente a quanto si osserva anche sul vivente (fig. 7).

Sono corpi generalmente rotondeggianti, nei quali si nota la cromatina come vacuolizzata, con cavità sferiche più o meno uniformi, una delle quali si allarga spesso spostando la cromatina verso la periferia, così da formare uno strato sottile avvolgente la plastina.

4°. *Il Fuso.* Noi diamo questo nome, a causa della forma e della funzione che assume durante la cariocinesi, ad un corpo cilindrico che attraversa la cavità nucleare nel senso della lunghezza, contribuendo a dare ai nuclei di *Haplosporidium* un aspetto del tutto caratteristico.

Osservando i nuclei a fresco, o pure in preparati trattati col Carminio acetico (fig. 5, 7) si nota che nel reticolo sono limitate due zone: l'una periferica, contenente il cariosoma, l'altra mediana, circolare o allungata, nella quale si può vedere un corpo compatto, lievemente brillante.

Nelle sezioni si hanno immagini diverse a seconda che queste taglino il nucleo in senso longitudinale o pure trasversale.

Nel primo caso si nota un cilindro mediano, costituito di una sostanza apparentemente omogenea che si colora elettivamente coi colori plasmatici, avvolta da uno spesso strato colorato intensamente in nero dall' Ematossilina ferrica. Questo strato generalmente non

si estende a tutta la lunghezza del fuso, ma appare interrotto per un breve tratto, verso le estremità aderenti alla membrana (fig. 15. 16, 17).

Nelle sezioni trasversali (fig. 12) si nota, in un alone chiaro mediano, la sezione trasversale dell' asse cilindrico, in forma di anello nero.

Lo strato cromatico è messo in evidenza solo nei preparati colorati con Ematossilina ferrica; anche in questi, spesso, quando sia protratta la differenziazione, non è più visibile (fig. 10). È indistinguibile nei preparati trattati con Carminio o con altri coloranti nucleari.

Assai sovente l'aspetto dei nuclei trattati con Ematossilina Delafield, Carminio ecc. è simile a quello rappresentato dalla fig. 7, tolta da un preparato con Carminio acetico. Non può sfuggire la notevole somiglianza tra questa figura e la fig. 49 b (1905, Pl. XII) di Caullery e Mesnil, che rappresenta nuclei in riposo di *Haplosporidium vejdovskyi*.

Un aspetto apparentemente assai simile a quelli di *H. limnodrili* visti a fresco (fig. 5) o in sezione trasversale, quando non sia colorato l'asse cilindrico, presentano i nuclei di *Sphaeromixa labrazesi* (Schröder, 1907), nei quali in seno al reticolo appare limitato uno spazio chiaro, che è però solo un vacuolo.

* * *

Lo stadio che abbiamo descritto come stadio di riposo tipico non è il più comune nei preparati; esso rappresenta una fase immediatamente precedente la divisione.

Uno degli aspetti più comuni dei nuclei è rappresentato dalla fig. 13, ed è quello che risulta subito dopo la ricostituzione teleofasica. Esso è caratterzzato sopra tutto dal fatto che il reticolo, invece di essere distribuito su tutta l'area nucleare, è concentrato a formare, intorno all' asse, una sorta di mantello fusiforme, talvolta collegato alla membrana da sottili filamenti acromatici. Il cariosoma appare generalmente omogeneo, con uno strato cromatico compatto avvolgente la plastina; l'asse centrale è privo dello strato cromatico, o pure questo è debolmente sviluppato.

Si potrebbe forse essere indotti a credere che si tratti di immagini artefatte; ma, oltre alla loro costanza, vi è il fatto che tali immagini si possono facilmente osservare anche a fresco.

Le fasi rappresentate dalle figg. 14, 15, crediamo di poterle interpretare come fasi di sdoppiamento della cromatina. Si osserva

da prima (fig. 14) la cromatina in piccole masse allungate e compatte sostenute dal reticolo; quindi (fig. 15) la troviamo di nuovo sparsa in masse più minute su un reticolo a tenui maglie regolari.

Il passaggio da questo stadio a quello che abbiamo descritto, di riposo tipico, pare avvenga solo per aumento del succo nucleare: il volume del nucleo aumenta, le maglie del reticolo diventano più ampie. Quindi si inizia la divisione.

b) Il processo di divisione.

1. Profase. Il reticolo, sparso in tutto il nucleo, comincia ad addensarsi attorno al fuso (fig. 19): si direbbe che le maglie subiscono una sorta di coartazione, simile a quella che dà origine alle figure di sinapsi, negli spermatociti e negli ovociti. La serie di stadî rappresentata dalle mie figure può certo escludere il dubbio che il fenomeno sia dovuto ad artefatto.

A poco a poco il reticolo si addensa completamente attorno all' asse mediano, così da costituire una massa fusiforme (fig. 20), normalmente connessa con la membrana da numerosi e tenui filamenti acromatici.

In questo stadio l'azione dei fissatori altera assai comunemente le immagini, che appaiono allora completamente diverse da quelle reali, osservate anche sul vivo: l'asse mediano diventa poco o nulla visibile, il reticolo costituisce un corpo fusiforme compatto sul quale la cromatina è sparsa in masserelle irregolari.

Il passaggio dallo stadio rappresentato dalla fig. 20, a quello delle fig. 23, 24, precedenti la metafase, è dovuto sopra tutto alla modificazione dell' asse mediano che si allarga sino ad assumere l'aspetto di un vero fuso, troncato alle due estremità connesse con la membrana, costituito di fibre visibili abbastanza nettamente ed avvolto dallo strato cromatico.

La cromatina (fig. 21, 22) continua ad addensarsi a poco a poco verso l'equatore del fuso, pur conservando ancora qualche connessione con la membrana.

Il cariosoma subisce modificazioni poco spiccate: si allunga solo, leggermente, mantenendosi esterno ma addossato alla cromatina.

2. Metafase. La cromatina è addensata all' equatore del fuso, costituendo intorno a questo una sorta di mantello; nelle sezioni trasversali (fig. 23, a sinistra) essa appare come un anello costituito di granuli o di piccoli ammassi di granuli, e rammenta esattamente le figure del mantello mitocondriale intorno ai fusi degli spermato-

citi di *Pamphagus*, descritto da Giglio-Tos e da me (cfr. 1908, fig. 9 e 10).

In queste „piastre equatoriali“ non si formano mai veri cromosomi; negli stadî più comuni, che sono quelli rappresentati dalla fig. 23, la cromatina sembra sempre conservare la sua connessione col reticolo, collegato a sua volta con la membrana. Raramente appaiono immagini come quelle della fig. 24, nella quali si notano piccole e irregolari masse cromatiche che sembrano indipendenti.

La rarità di questo stadio e dei primi stadî dell' anafase non mi ha permesso di determinare esattamente la durata della scissione del reticolo, se pure questa ha luogo, e il modo della sua eventuale ricostituzione. Ad ogni modo il reticolo riappare come vedremo, chiaramente nell' anafase avanzata.

3. Anafase. L'inizio dell' anafase è caratterizzato anzitutto dal cambiamento di aspetto del fuso che si allarga acquistando una forma caratteristica, a bariletto, alle estremità del quale, aderenti o no alla membrana, si notano due corpi ovali acromatici, omogenei, ai quali sembrano congiungersi le fibre. Contemporaneamente la cromatina si distribuisce sulle fibre stesse, in granuli o in piccole masse (fig. 25); quindi si suddivide in due zone (fig. 26 a sinistra) che a poco a poco si addensano poi verso i poli dove ben presto appare ricostituito il reticolo.

Queste fasi sono, verosimilmente, rapidissime. È da notarsi poi che, a differenza degli altri stadî, sempre del tutto simili nei nuclei grandi e in quelli piccoli, questi ultimi presentano ora aspetti un pò diversi: mentre nei nuclei grandi si forma un fuso a bariletto tipico, nei piccoli si ha un fuso cilindrico (fig. 39) con corpi polari meno regolari e distinti. Il comportamento generale è tuttavia sempre lo stesso.

È alla fine dell' anafase, quando il reticolo già appare ricostituito, che si inizia la divisione del cariosoma.

Ho rappresentato schematicamente nella fig. 1 del testo, gli stadî principali della divisione, dei quali si riconoscerà l'immagine reale corrispondente nelle figg. 26—32.

Si noti come il processo si compie rapidamente, tra la fine dell' anafase e l'inizio della teleofase, mentre le modificazioni della cromatina sono minime.

Quando si compie la separazione delle due masse cromatiche il cariosoma ha forma rotondeggiante (fig. 1a e fig. 26); le due masse di cromatina sono già addensate ai poli quando comincia ad allungarsi; la sua forma (b, e fig. 26), e specialmente le estremità appun-

tite, fanno pensare ad un corpo plastico che sia sottoposto ad una trazione; tuttavia non mi è stato possibile accertare la sua connessione con le fibre del fuso: sembra, nella maggior parte dei casi, indipendente.

Raggiunto l'allungamento massimo (c) la sostanza cromatica si addensa verso i due estremi, (d, e fig. 27); questo addensamento procede (c—f, e fig. 28—30) e si formano due masse a forma di coppa, addossate ai reticoli (fig. 29) collegate da un filamento sottile. Alla fine si hanno due corpi allungati, ripiegati ad ansa (fig. 32).

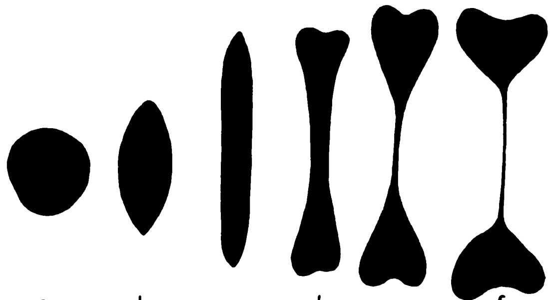


Fig. I.

A mano a mano che la divisione del cariosoma procede, il nucleo, da prima allungato, si strozza e si divide. I due nuclei figli restano lungamente uniti dagli avanzi del fuso che costituiscono da prima un corpo allungato, più o meno cromatico (fig. 31), quindi un filamento sottile, che viene espulso totalmente nel protoplasma. Si osservano, sebbene raramente, nuclei come quelli della fig. 34, nei quali la membrana sembra si ripieghi intorno al fuso per espellerlo. Noi troviamo poi traccia nel protoplasma della parte cromatica del fuso, sotto forma di granuli cromatici che vi si trovano spesso, situati in vicinanza dei nuclei.

4. Ricostituzione del nucleo. La successione dei varî stadî, che si seguono assai lentamente, può essere sintetizzata così:

Stadio I. Il reticolo cromatico viene a circondare il corpo polare costituendo intorno a questo una sorta di calotta (fig. 30—35).

Stadio II. Il corpo polare si allunga (fig. 36) e corrispondentemente si allunga il reticolo, divenendo pochissimo colorabile (fig. 48). Il cariosoma acquista forma sferica.

Stadio III. Il corpo polare si allunga ancora sino a raggiungere, alle due estremità, la membrana, e dando così origine alla parte acromatica dell' asse cilindrico. La cromatina costituisce un corpo fusiforme, come abbiamo già descritto per lo stadio rappresentato dalla fig. 13, nella quale vediamo una fase subito seguente a quella dei nuclei delle figg. 37, 38. Il passaggio è dovuto semplicemente al fatto che si forma intorno all' asse cilindrico lo strato

cromatico e il cariosoma raggiunge la posizione mediana normale dei nuclei in riposo.

* * *

Riassumendo, le nostre conoscenze, certo ancora incomplete, sui nuclei di *H. limnodrili* possono essere così sintetizzate:

„Nuclei vescicolari limitati da membrana persistente durante l'intero processo di divisione; costituiti da: a) cromatina sparsa in granuli su un reticolo acromatico; b) fuso intranucleare persistente nelle fasi di riposo sotto forma di un asse cilindrico longitudinale, costituito da una stostanza acromatica avvolta da uno strato cromatico; c) grosso nucleolo cromatico (cariosoma) formato di cromatina e di plastina. — Divisione con fuso costituito di fibre e corpi polari acromatici; la cromatina si addensa intorno al fuso formando una pseudo-piastra equatoriale senza veri cromosomi, quindi si suddivide in parti eguali, addensandosi intorno ai corpi polari, dai quali prendono poi origine gli assi cilindrici (fusi). — Il cariosoma si trasmette integralmente nelle varie generazioni nucleari, dividendosi indipendentemente dalla cromatina e dal fuso."

* * *

Dobbiamo accennare, per completare la nostra esposizione di fatti, ad una forma di divisione nucleare anomala che, per quanto rarissima deve essere rammentata in quanto simula una vera amitosi. La fig. II rappresenta gli unici due stadî che ho potuto osservare: essi appartengono a nuclei di un plasmodio della serie schizogonica.

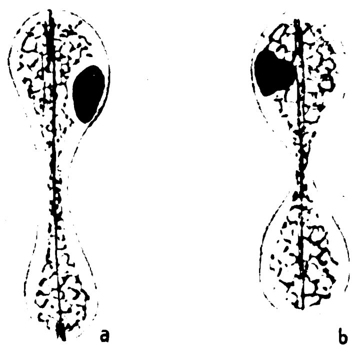


Fig. II.
Ingrand. ca. 2500 diam.

Verosimilmente il nucleo si allunga e si strozza: sembra che abbia luogo una divisione dell' asse centrale, mentre il cariosoma rimane indiviso in uno dei nuclei figli.

c) I nuclei degli altri Aplosporidi.

Il confronto tra le mie figure e le figure date da Caullery e Mesnil può dimostrare l'analogia esistente nella costituzione dei nuclei di *H. limnodrili* e di *H. vejdorskyi*, come ho già fatto rilevare nella mia nota preliminare.

Nessuna traccia si nota nei nuclei di *H. vejdovskyi* della parte più caratteristica, dell'asse cilindrico mediano; ma questo può spiegarsi rammentando che le figure di CAULLERY e MESNIL sono tolte da preparati colorati con Emallume-Eosina, e che lo strato cromatico avvolgente l'asse cilindrico è messo in evidenza, almeno per quanto mi consta, solo con l'Ematossilina ferrica; l'Eosina ne colora bensì la parte acromatica, ma non con grande evidenza, tanto più in preparati alquanto imperfettamente fissati. E l'aggruppamento della cromatina in bande compatte (CAULLERY e MESNIL fig. 48—51), la non colorabilità del reticolo dei nuclei in riposo (fig. 12), sono certo dovuti a fissazione imperfetta.

Ma la fig. 49 b di CAULLERY e MESNIL non lascia dubbio sulla sua interpretazione: essa mostra certamente nuclei in sezione trasversale nei quali appare un reticolo con cromatina sparsa in granuli, nucleolo cromatico periferico ed una zona chiara centrale. È esattamente, come abbiamo visto, quanto mostra la mia fig. 7.

La fig. 48 di CAULLERY e MESNIL reppresenta evidentemente un'anafase con fuso a bariletto. I nuclei della fig. 48 a b c, 50, 51, 53, con sostanza cromatica accumulata lungo i due meridiani, possono essere anche con certezza interpretati come nuclei in ricostituzione che spesso, anche nei miei preparati, tendono per evidente azione del fissatore ad assumere aspetti consimili.

A giudicare dai dati di C. e M., nel comportamento dei nuclei della varie specie di *Haplosporidium* i soli caratteri comuni che possiamo rilevare sono: presenza costante della membrana e del nucleolo cromatico, distribuzione della cromatina in granuli; divisioni che si compiono con fuso intranucleare, senza centrioli ai poli. Solo in *H. scolopli* si ha alla teleofase, la formazione di un corpo intermedio (C. e M. fig. 26) che manca in *H. limnodrili* e nelle altre specie.

I nuclei delle forme appartenenti ad altri generi differiscono sensibilmente da quelli di *Haplosporidium*: troviamo ad es. cromosomi distinti nelle piastre equatoriali di *Urosporidium* (C. e M. fig. 71); centrioli nei fusi di *Bertramia capitellae* (C. e M. fig. 91).

In *Haplosporidium* e *Urosporidium* la membrana nucleare persiste durante la divisione; il contrario avviene nelle divisioni dei nuclei di *Bertramia* e di *Ichthyosporidium*.

È costante ad ogni modo il fatto che le divisioni si compiono per mitosi: si avrebbe invece una divisione amitotica dei nuclei durante la fase schizogonica di *Anurosporidium* (CÉPÈDE).

IV. Schizogonia e gametogenesi.

Le mie ricerche permettono di stabilire per *Haplosporidium limnodrili* il ciclo seguente:

„Germe mononucleato che cresce moltiplicando i suoi nuclei, per per dare origine ad un plasmodio plurinucleato che si suddivide producendo individui mononucleati (*schizogonia*).“

„Gli schizonti, dopo varie generazioni, danno origine a gameti mononucleati uguali che si accoppiano a due a due, formando sporoblasti mononucleati che si trasformano in spore a struttura semplice, contenenti un solo germe.“

La distinzione tra la fase schizogonica e la fase gamogonica è assai poco netta, e nessun carattere permette di distinguere i plasmodî delle due forme, all'infuori delle dimensioni dei loro nuclei: carattere anche questo poco sicuro, giacchè tra le forme estreme, rappresentate dalle fig. 8, 9, 46 ecc. si trovano forme con nuclei di dimensioni intermedie. Ho già espresso l'ipotesi che si abbiano varie generazioni schizogoniche: durante queste le dimensioni dei nuclei decrescerebbero progressivamente.

Nelle forme descritte da Caullery e Mesnil la distinzione tra la schizogonia e la sporogonia (la fase sessuata è sfuggita all'osservazione di questi Autori) è ugualmente incerta. Caullery e Mesnil segnalano differenze di aspetto dei varî stadî, „specialmente differenze nelle dimensioni dei nuclei, che corrispondono probabilmente alle due fasi“ (1905 pag. 129). Ritengono in oltre, in base ad alcune figure, che la moltiplicazione endogena debba effettuarsi, almeno parzialmente, per divisione dei plasmodî in frammenti plurinucleati.

Noi possiamo escludere questo fatto per *H. limnodrili*; a proposito poi delle fig. 28 e 43 di C. e M. che rappresentano plasmodî suddivisi in corpi con quattro nuclei, abbiamo già accennato ad un' altra interpretazione, sulla quale ritorneremo in seguito.

In tutte le specie lo stadio iniziale più comune è quello a due nuclei; quello mononucleato è raro e in due forme (*H. heterocirri* e *H. vejdovskyi*) non è mai stato osservato.

Per *H. limnodrili* nelle fig. 1, 2, 3 si notano individui con un solo nucleo che, anche per la loro posizione nella cellula ospite, ritenendo che l'infezione si compia per via intestinale, sembrano degli stadî iniziali; non escludiamo tuttavia che si tratti di individui binucleati divisi dalla sezione: gli individui binucleati sono comunissimi.

I plasmodî, tanto nella fase schizogonica, quanto in quella gamogonica, hanno tipicamente forma sferica, sebbene questa, in realtà, non sia comune; ma che le forme variamente allungate che si osservano siano dovute a deformazione per compressione lo dimostrano: anzitutto il fatto che sferiche sono sempre le cisti che crescono libere, p. es. quelle vicine ai seni sanguigni (fig. 47), ed in oltre l'osservazione che i piani di divisione nucleare tendono a seguirsi in modo determinato.

Nei plasmodî a due nuclei la divisione si compie in piani paralleli (fig. 44); quindi i quattro nuclei risultanti si dividono secondo piani paralleli a due a due e perpendicolari fra loro (fig. 45), e così via. Nei plasmodî a nuclei molto numerosi si hanno piani di divisione in ogni senso (fig. 47).

Dobbiamo evidentemente ammettere che l'allungamento teleofasico del corpo polare, che determina la direzione dell'asse cilindrico, e quindi del fuso, si produca in tutti i sensi, come del resto molte osservazioni dimostrano.

Le divisioni possono, entro certi limiti, considerarsi come sincrone, malgrado qualche eccezione. Si veda il sincronismo perfetto degli stadî negli individui rappresentati da varie figure (21, 23, 33, 35, 47 etc.); si noti al contrario nella fig. 26 un nucleo in metafase, mentre gli altri sono in stadî successivi di anafase.

Quanto al numero dei nuclei dello stesso plasmodio al momento della separazione degli schizonti o dei gameti, esso è certamente assai incostante. Si notano tuttavia assai raramente plasmodî della serie schizogonica con nuclei in numero maggiore (in sezione) di 10 o 12. Nella fase gamogonica i nuclei possono essere anche una cinquantina. Si trovano poi, allo stesso modo, cisti con spore in numero variabile entro limiti molto ampii.

Nei plasmodî al termine dell'accrescimento il protoplasma appare indiviso durante l'ultima divisione finchè i nuclei si trovano in anafase. È durante la teleofase, nello stadio di minima cromaticità nucleare (fig. 48) che si inizia la divisione del protoplasma. Si ha a poco a poco una netta individualizzazione di parti protoplasmatiche intorno a ciascun nucleo così da dare origine a corpi di dimensioni abbastanza costanti, sempre mononucleati, con contorno poligonale per compressione reciproca (fig. 46, 48, 49).

Gli schizonti di maggiori dimensioni da me osservati (fig. 46) misurano circa 7—8 μ; i gameti corrispondono sempre a un di presso a quelli rappresentati dalle fig. 49, 50, 51, e misurano circa 5 μ di diametro.

Si osservano spesso plasmodî delle due serie, ma specialmente della serie a grandi nuclei, con protoplasma vacuolizzato; ed è in una forma simile che Caullery e Mesnil ritengono si inizii la suddivisione del protoplasma in *Urosporidium*. Ma, per quanto la vacuolizzazione sia talvolta tale da far sospettare che, anche nel nostro caso, preludii ad una scissione di parti, io credo che, nei miei preparati, rappresenti un fatto anormale. Essa è del resto assai incostante; non si trova che raramente nei preparati fissati con sublimato e, nei preparati fissati altrimenti, va spesso unita a caratteri evidenti di alterazione.

V. Copulazione dei gameti.

I gameti, indipendenti gli uni dagli altri per un periodo brevissimo, sono rotondeggianti (fig. 50), con protoplasma jalino a tenui trabecole nel vivente, più o meno vacuolizzato nei preparati, a seconda dei fissatori.

I nuclei si trovano nello stadio che segue immediatamente la ricostituzione: l'asse cilindrico è privo generalmente dello strato cromatico; la cromatina forma attorno ad esso un reticolo a forma di fuso, connesso con la membrana nucleare da tenui filamente acromatici, nettamente visibili a fresco (fig. 55); il cariosoma è situato lateralmente.

Noi seguiremo nello nostra descrizione il decorso tipico del fenomeno, e crediamo per questo opportuno unire alle figure tolte dal vero alcune figure schematiche (fig. III del testo).

Riferendoci alla posizione dei nuclei, o meglio, alla posizione dell' asse cilindrico longitudinale, possiamo dire che i gameti si accollano

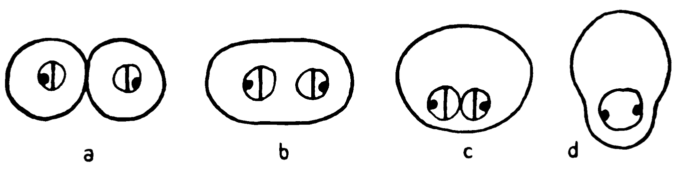


Fig. III.

l'uno all' altro lateralmente, cioè in modo che gli assi dei due nuclei sono, più o meno, paralleli: i cariosomi si trovano in posizioni opposte (fig. III a, fig. 51).

Rapidamente si compie la fusione dei citoplasmi e si hanno corpi binucleati di forma allungata (fig. III b, fig. 52).

A mano a mano che i nuclei si avvicinano e si inizia e si compie la loro fusione, essi appaiono spostati verso uno dei lati della copula (fig. III c, fig, 53, 54) mentre il protoplasma si addensa nella parte opposta, e in tal modo hanno origine gli sporoblasti (fig III d, fig. 62, 63).

a) Cariogamia ed epurazione nucleare.

I nuclei dei gameti si avvicinano, la membrana si fonde nella superficie di contatto e rapidamente i succhi nucleari si mescolano. Indi si inizia la fusione della parte cromatica.

I reticoli si accollano l'uno all' altro longitudinalmente (fig. 54) e le due masse cromatiche si uniscono, rimanendo tuttavia indipendenti i cariosomi che si trovano tipicamente in posizioni opposte. Veduti in sezione trasversale i due pronuclei appaiono rotondi, con cromatina addensata specialmente alla periferia. Si potranno vedere nella fig. 56 varî stadî iniziali della cariogamia; la fig. 55 rappresenta la stessa fase veduta a fresco.

A mano a mano che procede la fusione, prima della costituzione del syncaryon si vede, nell' interno della massa cromatica, delimitarsi un corpo acromatico irregolarmente sferico. Il syncaryon ha, grossolanamente, la forma di una coppa, dalla quale emerge questo corpo che viene poi riversato nel citoplasma.

Le mie osservazioni riguardo a questo punto tanto caratteristico sono ancora lontano dell' essere complete. Ho rappresentato nelle fig. 57—60 le immagini che più comunemente si notano nei preparati: si vede chiaramente nelle fig. 57—58 il corpo acromatico in seno al nucleo; nelle fig. 59—60 è nel citoplasma, ed il *syncaryon* acquista poi la sua forma definitiva (fig. 61—62) che è quella caratteristica del nucleo dello sporoblasto e della spora: ha forma ovale allungata ed appare costituito di un reticolo a maglie regolari e due cariosomi sferici, disposti alle estremità. Anche nel vivo non occupa mai completamente l'area nucleare, mostrando tuttavia spesso tenui connessioni di linina con la membrana.

Nel *syncaryon* non si nota più traccia dell' asse centrale: la massa acromatica espulsa corrisponde probabilmente a questa parte. Nella mia nota preliminare (1913) ho accennato anche all' espulsione di un granulo cromatico: ritengo si tratti di un avanzo della parte cromatica del fuso che, come si è visto, viene espulsa ad ogni generazione nucleare. Questo granulo negli sporoblasti (fig. 63) non è sempre connesso al corpo acromatico, ma si trova in posizioni varie;

non è raro notarne la presenza nel citoplasma delle copule anche prima della cariogamia e dell' epurazione.

b) La riduzione cromatica.

Una questione importante si presenta, relativamente a questo fenomeno; ma, in macanza di dati di fatto precisi, non possiamo che limitarci ad accennare delle ipotesi.

La mia prima idea, espressa anche nella nota precedente, è stata quella di omologare l'espulsione del corpo acromatico dal *syncaryon*, a simili fenomeni di epurazione che si notano nelle *Monocystys*, e che Léger e Duboscq (1909) considerano come i soli fatti che possano in queste forme esser comparati ad una riduzione. Brasil p. es (1905) osserva nella copule delle *Monocystys* di *Lumbricus herculeus* l'espulsione, da parte del *syncaryon*, di un grosso granulo cromatico e di una sferula jalina; ma interpreta questo, come altri fatti equivalenti (espulsione di una porzione del nucleo nella 1ª mitosi, ecc.) come dei fenomeni di epurazione piuttosto che di vera riduzione. Una riduzione vera, in tutt' altra forma, è stata infatti osservata in seguito da Mulsow (1911) in *Monocystys rostrata*.

L'epurazione nucleare della copula di *Haplosporidium* non può dunque certamente omologarsi ad una riduzione dopo la cariogamia, come si compie in molti casi: si tratta semplicemente del rigetto di una parte vegetativa del nucleo, il fuso probabilmente.

Un' altra ipotesi può essere avanzata a proposito delle fig. 28 e 43 di Caullery e Mesnil, che rappresentano in *Haplosporidium scolopli* e in *H. marchouxi*, corpi a 4 nuclei. Se noi colleghiamo queste figure rispettivamente alle fig. 27 e 42 degli stessi Autori, che mostrano in uno stadio precedente corpi binucleati, evidentemente delle copule, è naturale pensare che le figure a 4 nuclei rappresentino il risultato di divisioni riduttive dei nuclei dei gameti, prima della cariogamia.

Un comportamento simile si ha in *Plasmodiophora* (Prowazek 1905): negli sporoblasti, risultanti dall' unione di due gameti simili, i nuclei si dividono due volte quindi (per quanto questo si osservi solo casualmente; v. Prowazek 1913) ha luogo la cariogamia.

Un' interpretazione simile deve essere esclusa nel caso di *Haplosporidium*, perchè, mancando queste divisioni dei pronuclei nella maggior parte dei casi, dovremmo dedurne che il fenomeno non si compie sempre nella stessa forma, il che è certo poco probabile.

L' ipotesi che sembra più verosimile è la seguente: la riduzione si compie per due divisioni successive, senza stadio di riposo inter-

medio, dei nuclei del gametocito, prima della separazione dei gameti. Noi abbiamo notato come è raro trovare plasmodî con nuclei in riposo in numero superiore (in sezione) a 10 o 12; e il numero dei nuclei del gametocito, al momento dell' individualizzazione dei gameti, è sempre assai superiore. Se ne può arguire una mancanza dello stadio di riposo intercalato alle ultime divisioni per cui si avrebbero da *n* nuclei, 4*n* nuclei ridotti.

Questa ipotesi è suggerita anche da qualche dato relativo ad alcune figure di profase che però, per essere molto incerto, non posso addurre come prova: altre ricerche dovranno meglio chiarire questo punto.

VI. Sporogenesi.

L'evoluzione degli sporoblasti si compie per una serie di stadî, alcuni dei quali rapidissimi, a giudicare dalla loro rarità, altri assai persistenti, che io ho rappresentati con figure semi-schematiche fatte in base ad osservazioni compiute su materiale vivo e fissato (fig. IV del testo).

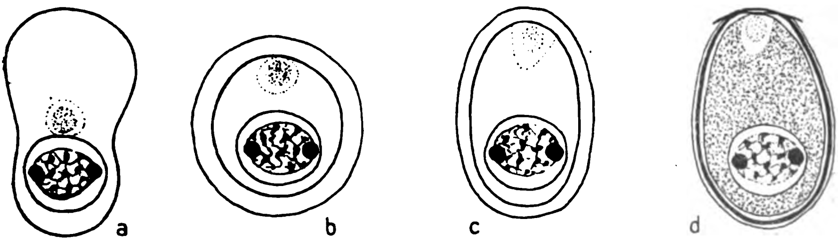


Fig. IV.

Stadio I. *Sporoblasto tipico* (fig. IV a; fig. 63). Dopo la cariogamia e l'epurazione nucleare gli sporoblasti appaiono come corpi allungati, ovali con contorno irregolare, nei quali distinguiamo, riferendoci all' orientazione della spora matura, due parti, che indichiamo come superiore e inferiore.

La parte inferiore è occupata quasi totalmente dal *syncaryon*, coi caratteri che abbiamo indicati, ovale, tipicamente disposto trasversalmente all' asse maggiore.

La parte superiore è una massa di protoplasma a struttura alveolare. Addossato alla parte superiore del nucleo è il corpo

acromatico, limitato da una zona chiara e, generalmente vicino a questo, il granulo cromatico al quale abbiamo accennato. Di quest' ultimo non si trova poi più traccia negli stadî ulteriori.

Stadio II (fig. IVb; fig. 64). Lo stadio più comune che si trova dopo quello su descritto è rappresentato da corpi sferici nei quali il nucleo e il corpo acromatico sono immersi in una massa di protoplasma denso attorno al quale si è differenziato uno straterello di protoplasma jalino, a tenui trabecole, che molto spesso viene alterato nelle preparazioni permanenti.

Il passaggio dallo Stadio I allo Stadio II è dovuto semplicemente alla regolarizzazione del protoplasma intorno al nucleo, che conserva però sempre la sua posizione eccentrica, ed alla separazione dello strato esterno.

Stadio III (fig. IVc; fig. 65). Le spore acquistano la loro forma definitiva, ovale. Un' immagine leggermente alterata di questo stadio, assai comune in ogni preparato, è rappresentata dalla fig. 65. Gli strati protoplasmatici esterni, riuniti nelle superfici di contatto, formano come delle trabecole nelle quali sono contenute le spore, nude. Noi troviamo una grande analogia tra la fig. 65 e la fig. 56 (Pl. XII) die Caullery e Mesnil che evidentemente rappresenta uno stadio simile. Il corpo acromatico è situato al polo anteriore, dove appare poi sempre, anche nella spora matura, contenuto in una cavità chiara con limite netto.

Stadio IV. Spora (fig. IVd; fig. 67). Nello strato protoplasmatico esterno si differenziano gli involucri sporali e si ha così la spora matura, di forma ovale poco allungata, lievemente appiattita nella parte anteriore, dove l'endospora forma una specie di coperchio leggermente sporgente ai margini. L'epispora è in generale poco visibile perchè fortemente aderente all' endospora; appare in modo chiaro quando l'endospora è contratta fortemente, per l'azione dei fissatori.

Le spore misurano 8, 10 μ nell' asse minore e 10, 12 nell' asse maggiore. Solo la loro forma permette di individualizzare questa specie che tuttavia presenta affinità indiscutibili, sia strutturali che evolutive, con *Haplosporidium vejdovskyi* Caullery e Mesnil.

Una particolarità da menzionare, nella costituzione del protoplasma sporale di *H. limnodrili*, è la presenza di granuli nettamente cromofili, sparsi nelle trabecole citoplasmatiche (fig. 66). La loro presenza comincia a rendersi evidente nello Stadio III e si trovano ancora nella spora matura: la loro origine ci sfugge completamente.

Non ci nascondiamo altre lacune importanti che presentano queste ricerche: noi ignoriamo completamente quali siano le modificazioni del germe all' inizio dell' infezione; gli stadi più giovani che abbiamo trovati nell' epitelio sono generalmente binucleati, e nei casi in cui abbiamo notato individui ad un solo nucleo (osservati nelle sezioni, come si è detto, e quindi con certezza relativa) questo presentava già la costituzione normale, con cariosoma, reticolo e fuso. Resta a determinare il modo di origine di queste parti dal *syncaryon*. Niente sappiamo infine della sorte del corpo acromatico.

VII. La fase sessuata e la sporogenesi nelle altre specie.

È ancora in *Haplosporidium vejdovskyi* che si osservano le più evidenti analogie coi fenomeni da me osservati, e il solo esame delle figure di CAULLERY e MESNIL è sufficiente per dimostrarlo.

Nella fig. 53 di questi autori si riconosce facilmente una cisti con gameti, nella fig. 55 una cisti con copule, esattamente uguali, tanto per la forma come per la posizione dei nuclei a quelle da me rappresentate.

La fig. 56, che mostra elementi unicellulari individualizzati con nucleo in divisione, sembra in realtà dar ragione all' interpretazione di CAULLERY e MESNIL, secondo i quali i corpi binucleati sarebbero piuttosto degli stadî divisione degli sporoblasti precedente immediatamente la formazione delle spore. Certo è da ritenersi che la figura suddetta non rappresenti una fase precedente quella della fig. 55 ma sibbene degli schizonti che si separano iniziando la moltiplicazione dei nuclei.

Che i corpi binucleati della fig. 55 rappresentino il risultato dell' unione dei corpi mononucleati della fig. 53, mi pare lo dimostri anche il confronto delle loro dimensioni.

Del resto anche CAULLERY e MESNIL non escludono che i corpi binucleati (la cui presenza è costante in tutte le specie di *Haplosporidium*) siano da interpretarsi come fasi di coniugazione; essi notano tuttavia, per giustificare il loro dubbio, che non hanno mai constatato la fusione dei nuclei, che *H. scolopli* e *H. marchouxi* presentano anche stadi con corpi a 4 nuclei, che, infine, in altre forme (*Urosporidium*) lo stadio binucleato non esiste, mentre, rappresentando una coniugazione, dovrebbe evidentemente trovarsi in ogni caso.

Che la fusione dei nuclei avvenga non può essere messo in dubbio dopo le mie osservazioni; ma si tratta di un fenomeno piuttosto rapido e agevolmente si comprende come possa essere sfuggito in ricerche fatte sempre su materiale più o meno limitato.

Degli stadî a 4 nuclei ho già fatto cenno a proposito della riduzione cromatica; ma non è escluso del resto che si tratti ancora di schizonti anzichè di sporoblasti.

Quanto alla costanza della fase noi dobbiamo per ora limitarci a considerare le specie del gen. *Haplosporidium*, ed è certo che in tutte si notano cisti con corpi mononucleati e cisti con corpi binucleati; e, per analogia con quanto avviene in *H. limnodrili* dobbiamo ritenere che in tutte le specie la fase sessuata sia rappresentata dalla formazione di gameti uguali che si accoppiano per dare origine a sporoblasti.

L'interpretazione data da Cépède (1913) della fig. 11 di Caullery e Mesnil è dunque evidentemente inesatta.

Questa figura rappresenta una cisti di *H. heterocirri* con corpi monucleati grandi e piccoli. Cépède, notando una somiglianza con gli stadî di coniugazione di *Anurosporidium*, ritiene che rappresenti una cisti con macro- e microgameti, per cui si avrebbe anche in *Haplosporidium* una anisogamia spiccata.

Ma i piccoli corpi della figura suddetta sono già stati interpretati da Caullery e Mesnil come nuclei in degenerazione e l'esattezza di questa interpretazione sembra evidente. D'altra parte si avrebbe in *H. heterocirri* un comportamento eccezionale giacchè non si notano mai in nessuna altra specie, cisti con gameti di due dimensioni. In *H. heterocirri* la fig. 8 rappresenta i gameti mononucleati, la fig. 10 le copule. La fig. 11 non solo non rappresenta macro- e microgameti; ma è facile vedere che molti dei corpi mononucleati grandi presentano le caratteristiche evidenti degli sporoblasti, per la posizione del nucleo e per la presenza del corpo acromatico.

Quest' ultimo, che le mie osservazioni dimostrano essere un prodotto di epurazione nucleare, è interpretato da Cépède come un nucleo parietale, risultante dalla divisione del nucleo delle copula. Tale interpretazione può essere senz' altro esclusa, nel caso di *H. limnodrili*, per l'origine di questo corpo, per il suo comportamento di fronte ai coloranti e infine per la sua posizione. Sopra tutto, esso non assume mai, nei miei preparati, nessuno dei coloranti nucleari impiegati, mostrando al contrario un' affinità notevole pei colori acidi; nei preparati con Ematossilina ferrica appare incoloro

o pure solo debolmente grigio se la differenziazione è molto limitata. Il suo aspetto è esattamente quello che appare nelle figure di CAULLERY e MESNIL nelle quali dunque la sua debole colorazione non è dovuta, come ritiene CÉPÈDE, ad una troppo prolungata differenziazione. Certo esso non ha nulla di comune col nucleo parietale delle spore di *Anurosporidium.*

VIII. Localizzazione del parassita. Azione sull' ospite. Modo d'infezione e di diffusione delle spore.

L'infezione appare localizzata principalmente nell' epitelio intestinale o, con più precisione, nell' intestino medio; ma può estendersi ad altri tessuti: al cloragogo, agli organi sessuali e, per quanto assai raramente, al peritoneo.

Le infezioni nella cavità del corpo sono sempre molto limitate; ma pare tuttavia che lo sviluppo possa compiersi ugualmente dovunque, e non è rarissimo il caso di trovare cisti sviluppate, con spore mature, anche all' infuori dell' epitelio intestinale.

In individui con infezione limitata o recente si trovano plasmodî con pochi nuclei, situati generalmente nella parte basale dell' epitelio, addossati ai seni sanguigni; il che può indurre a ritenere che il veicolo dell' infezione sia stato il sangue. Ma si trovano altresì plasmodî all' inizio dello sviluppo situati nella parte distale delle cellule, e sono questi che rappresentano probabilmente il punto di partenza dell' infezione, benchè non mi sia stato possibile cogliere il momento di penetrazione nella cellula.

Generalmente però si trovano infezioni assai abbondanti costituite da individui in tutti gli stadî, ammassati a ridosso dei seni sanguigni, alla base delle cellule epiteliali — che vengono spostate o distrutte — o pure entro le cellule, nel mezzo o al limiti dell'epitelio.

In base a molti fatti crediamo di poter ricostruire il ciclo cosi: il germe penetra nelle cellule ed inizia la moltiplicazione dei nuclei, raggiungendo la base dell' epitelio. Gli schizonti possono diffondersi invadendo direttamente cellule vicine o pure, assai probabilmente, sono trasportati dalla corrente sanguigna. L'infezione dei cloragociti (fig. V) avviene forse per diretto passaggio dalle cellule epiteliali.

La diffusione della spore si compie per via intestinale o pure per la morte dell' ospite.

Nella fig. VI del testo è rappresentato un caso assai evidente, per quanto non molto comune. La sporocisti è contenuta in una sola cellula epiteliale ipertrofizzata che sporge nel lume intestinale, dove, per rottura del sottile strato protoplasmatico che la limita, le spore saranno libere.

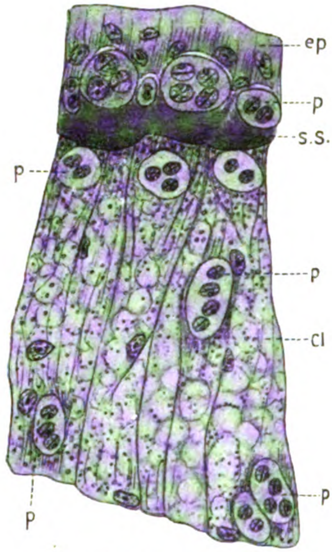


Fig. V. Ingr. ca. 750 diam. p = parassita; ep = epitelio intestinale; ss = seni sanguigni; cl = cloragociti.



Fig VI. Ingr. ca. 750 diam.

La fig. 49 rappresenta il caso di un gametocito che si trova nelle stesse condizioni.

La fig. VII del testo rappresenta il caso più comune: le sporocisti sono situate alla base dell' epitelio. Si noti come molte cisti, pure essendo addossate ai vasi sanguigni, si trovano assai vicine al limite dell' epitelio stesso. Si vede ancora che l'infezione, come è caso comune, è assai abbondante e si trovano, oltre che cisti con spore mature, individui in via di sviluppo, così che l'epitelio sarà alla fine completamente distrutto.

Questo porta evidentemente alla morte dell' ospite; mi è avvenuto abbastanza spesso di trovare individui morti e in via disfacimento ripieni di spore.

Osservando le infezioni della cavità del corpo, con spore mature, o pure trovando, come talvolta avviene, spore che sembrano libere nei vasi sanguigni, è ovvio domandarsi se non sia possibile anche un' altra via di diffusione delle spore, oltre quella intestinale: le

spore potrebbero venir forse portate all' esterno coi prodotti sessuali o di escrezione. Ma nessun dato permette di convalidare questa ipotesi.

Un dubbio può sorgere ugualmente sulla possibilità di una autoinfezione: nel senso che le spore possano svilupparsi anche in seno all' ospite nel quale sono state prodotte, come è stato ritenuto possibile nei Cnidosporidi, in base a dati tuttavia discutibili (cfr. Auerbach 1910, p. 66 e seg.).

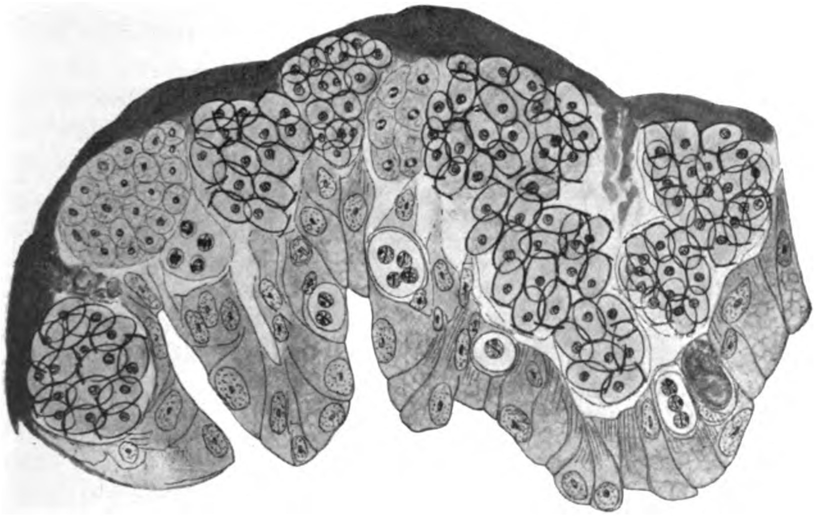


Fig. VII. Ing. ca. 750 diam.

Le spore di *Haplosporidium* possono probabilmente esser trasportate dalla corrente sanguigna; ma, per quanto sia difficile distinguere nettamente gli individui giovani provenienti da schizogonia, da quelli derivanti dal germe, io credo che gli individui giovani che si trovano nei vari tessuti provengano sempre da divisioni agame.

Per quanto riguarda la reazione da parte dell' ospite abbiamo già accennato all' ipertrofia delle cellule infette che si nota in alcuni casi; ma in generale non si notano che fenomeni di atrofia. Il germe, penetrato nella cellula epiteliale, si comporta bene come uno sporozoite di Coccidio o di Gregarina, ma non hanno luogo quei fenomeni che sono stati descritti da Brasil, Siedlecki, Léger ecc: la reazione della cellula ospite può considerarsi come nulla, e solo in qualche raro caso il nucleo appare leggermente ipertrofizzato (fig. 3).

Il parassita giovane è situato al di sotto o al di sopra del nucleo, generalmente addossato a questo, fino a comprimerlo talvolta in modo caratteristico (fig. 1, 2).

Durante gli stadî iniziali intraepiteliali interviene talvolta l'azione dei fagociti che li avvolgono e li distruggono. Ma dove l'azione dei linfociti è spiccatissima è nella cavità del corpo. In tutti gli individui infetti si trovano, addossate ai cloragociti, delle masse di linfociti invasi da uno, due e perfino tre plasmodî.

Non è raro trovare i parassiti in via di degenerazione (fig. 6), ma generalmente essi continuano il loro sviluppo a spese del linfocito stesso che a poco a poco viene distrutto (fig. 5).

Il comportamento dei linfociti è ben degno di attenzione dopo le osservazioni di Mrázek (1910) sulle interessanti *Myxocystis* dei *Limnodrilus* che, considerate prima come Microsporidi, pare rappresentino invece una cellula ospite e, più precisamente un linfocito infetto, che reagisce in modo caratteristico, con produzione di sporgenze o di ciglia.

Io ho trovato assai spesso queste forme nei miei preparati; ma non posso tuttavia portare nessun dato in favore o contro la tesi di Mrázek, le cui conseguenze, da un punto di vista generale, sono certo assai importanti.

* * *

I dati relativi alla localizzazione e alla diffusione delle spore nelle altre specie di *Haplosporidium* dimostrano che non esiste grande uniformità di comportamento.

H. heterocirri si mantiene nella parte basale dell' epitelio, in contatto col seno vascolare, e quì si trovano stadî giovani mono- e bicellulari e tutti gli stadî di sporulazione.

Tale localizzazione alla base dell' epitelio è comune anche ad altri Aplosporidi (v. *Caullerya mesnili* dell' intestino di *Daphnia* — Chatton 1907) ma noi dobbiamo metterla in relazione col modo di nutrizione del parassita, che assorbe direttamente i materiali del sangue, piuttosto che col modo di trasporto dell' infezione.

Tuttavia per *H. vejdovskyi* si nota che gli stadi più giovani (bicellulari) sono nei seni sanguigni, e solo gli stadi più avanzati sono nell' epitelio: sembra dunque che la propagazione si faccia per l'apparato vascolare. Il parassita non si estende ad altri organi all' infuori del tubo digerente.

H. scolopli è parassita della cavità generale.

H. potamillae forma le sue cisti nella cavità generale.

H. marchouxi è anch' esso nel celoma e gli stadî più giovani sono nelle cellule del peritoneo; non esiste traccia del passaggio del parassita per la parete intestinale.

CAULLERY e MESNIL, ai quali sono dovuti questi dati (1905), pure ammettendo che la via più normale d'infezione e di diffusione delle spore sembra l'intestino, notano che solo nel caso di *H. vejdovskyi* un certo numero di spore di trovava nel lume intestinale, tuttavia assieme ad elementi cellulari, così da far ritenere che non si trattasse di un fatto normale. In altre specie sembra che le spore non possono esser messe in libertà che con la morte dell' ospite.

Riguardo al modo d'infezione CAULLERY e MESNIL non escludono che possa avvenire per via cutanea.

IX. Appendice.

In un lavoro recente, del quale vengo a conoscenza solo dopo aver compiuto queste ricerche, SWARCZEWSKY rende noti i risultati dei suoi studi sul ciclo vitale di alcuni Aplosporidi: *Ichthyosporidium giganteum* (THÉL.) *I. hertwigi* n. sp. e *Cœlosporidium periplanetae* (LUTZ e SPLENDORE). Credo opportuno riferirne qui brevemente, traendone occasione per alcune considerazioni.

La conclusione più importante del lavoro di SWARCZEWSKY è che vengono ricondotte agli Aplospòridi forme considerate fin' ora come Microsporidi.

Ichthyosporidium giganteum, parassita di *Crenilabrus ocellatus*, corrisponde alla forma parassita di *Crenilabrus melops*: *Pleistophora gigantea* (THÉL.) (= *Glugea gigantea* THÉL.)

Gli stadî più giovani del parassita, liberi nel connettivo dell'ospite, sono rappresentati da piccoli corpi ameboidi mononucleati che crescono mentre i nuclei si moltiplicano, a differenza di quanto si nota nei Microsporidi, e come è invece comune negli Aplosporidi, per cariocinesi: una „mitosi tipica", come la definisce l'Autore, caratterizzata dalla presenza di centrioli, dal fuso acromatico nettamente costituito di fibre, dalla scomparsa della membrana durante la divisione. Nello stadio di riposo la cromatina costituisce un corpo compatto (cariosoma) situato nel centro del nucleo; al momento della divisione questo si suddivide in parti (cromosomi) che costituiscono

una piastra equatoriale: si formano quindi, per divisione, due piastre-figlie che si portano ai poli costituendo corpi compatti.

Contemporaneamente all'accrescimento dei plasmodî si nota un aumento delle dimensioni dei nuclei, per cui si deve ammettere che sia intercalato alle divisioni uno stadio di accrescimento eccezionale: tale parallellismo tra l'accrescimento delle dimensioni dei nuclei e l'approssimarsi della sporulazione si nota, secondo l'Autore, anche in *I. gasterophilum* e *I. phymogenes*, stando alle figure di Caullery e Mesnil, come anche in *Haplosporidium scolopli* e *H. marchouxi.*

È difficile stabilire il valore di questa osservazione per *H. limnodrili*: è probabile che anche in questa forma l'accrescimento, negli stadi vegetativi, sia accompagnato da un accrescimento dei nuclei; le dimensioni di questi vanno però sempre diminuendo durante successive generazioni agame.

Il plasmodi di *Ichthyosporidium* si avvolgono in una cisti formata dal tessuto dell' ospite, e che rappresenta cioè una reazione dell'ospite stesso. Uguale origine ha la membrana cistica dei Sarcosporidi (Alexeieff 1913) ed io ritengo che come un prodotto dell'ospite debba considerarsi anche la tenue membrana che avvolge le cisti di *Haplosporidium.*

Nelle cisti di *Ichthyosporidium* si trovano nella maggior parte dei casi, plasmodî plurinucleati e corpi mononucleati che possono esser ritenuti, per quanto con dubbio, il risultato di una plasmotomia. Questi ultimi degenerano o pure danno origine a plasmodî plurinucleati, sia per divisioni nucleari consecutive, sia per una „divisione multipla".

La divisione multipla si compie per un processo assai caratteristico: il nucleo acquista grandi dimensioni e il cariosoma cresce assumendo una forma irregolare, con diramazioni radiali; quindi la cromatina si scinde in numerose masse sostenute dalle anastomosi di un reticolo acromatico; la membrana nucleare scompare e queste masse, libere alla fine nel protoplasma, costituiscono ciascuna un nuovo nucleo.

Questo stadio è certo con ragione paragonato dall' Autore ad una figura data per *Haplosporidium marchouxi* da Caullery e Mesnil (1905, Pl. XI, fig. 34) e interpretata da questi (pag. 16) come un probabile indizio di divisione multipla dei nuclei. Nulla io posso dire personalmente riguardo all'interpretazione di tale figura: certo tanto in *H. limnodrili* quanto nelle altre specie, nessun dato, all' infuori di questo, esiste per determinare l'esistenza di una divisione multipla la moltiplicazione dei nuclei si compie sempre per cario-

cinesi, con caratteri verosimilmente costanti, e certo assai diversi da quelli delle mitosi di *Ichthyosporidium*.

I plasmodi multinucleati si dividono, in questi ultimi, per dare origine a schizonti talvolta mononucleati, plurinucleati nella massima parte, e questo a differenza di *Haplosporidium* dove, come ho già accennato, ritengo si separino sempre schizonti mononucleati.

Grande interesse presentano i dati relativi alla fase sessuata ed alla sporogonia.

Nei plasmodi che hanno raggiunto il loro completo sviluppo si trovano grossi nuclei in riposo, con membrana e più o meno compatti ammassi di cromatina. I nuclei si avvicinano a due a due e si fondono; o, meglio, la membrane scompaiono e i cariosomi si accollano senza mescolarsi. I plasmodi si dividono quindi per plasmotomia in un gran numero di piccoli corpi, ciascuno con due cariosomi appaiati, che debbono considerarsi come pansporoblasti.

Questi si dividono — pur rimanendo indipendenti i cariosomi — in due sporoblasti che si circondano di una membrana e si trasformano in spore, mentre si ha ancora una divisione dei cariosomi. Così la spora contiene due paia di cariosomi: uno di questi scompare, producendo granulazioni caratteristiche, l'altro, dopo che i due cariosomi si sono mescolati, diventa il nucleo del germe. L'ultima divisione, nello sporoblasto, è evidentemente una divisione riduttiva.

In *Ichthyosporidium hertwigi* SWAR., parassita di *Crenilabrus pavo* il processo sessuale può compiersi in due modi. In alcuni casi i nuclei dei plasmodi si accoppiano e si dividono poi due volte: la 1ª divisione corrisponde alla divisione del pansporoblasto, la 2ª alla divisione riduttiva; quindi gli sporoblasti si individualizzano e si trasformano in spore.

In altri casi i plasmodî si scindono per formare gameti uguali che si accoppiano per dare pansporoblasti e quindi spore c. s.

Le spore mancano di filamento come di capsula polare; e, pur non avendo dati precisi, l'A. ritiene possibile che esse si aprano a coperchio, come le spore di *Haplosporidium*.

Le forme studiate da SWARCZEWSKY si allontanano così dal tipo normale dei Microsporidi, mentre presentano varî caratteri di analogia cogli Aplosporidi: I nuclei vescicolari, le dimensioni dei plasmodî, l'appaiamento dei cariosomi (cfr. *I gasterophilum* C. e M.), la plasmotomia dei plasmodî (*I. phymogenes* C. e M.; non *Haplosporidium*, come abbiamo visto), la forma dei pansporoblasti e infine la divisione costante dei nuclei per cariocinesi.

Swarczewsky conserva la posizione di *Ichthyosporidium* a lato di *Bertramia*, seguendo l'aggruppamento provvisorio proposto da Caullery e Mesnil di questi generi in una fam. *Bertramidae*.

Dopo le ricerche di Konsuloff su *Bertramia asperospora* Fr. (1912) e *B. euchlanis* Kons. (1914) mi pare che le affinità fra i due generi risultino molto discutibili e credo che dovranno essere separati in due famiglie distinte.

Le affinità del gen. *Haplosporidium* rimangono sempre ugualmente dubbiose. Noi non possiamo che accettare, fino a nuovo avviso, la sua connessione col gen. *Cœlosporidium*, considerando *Caullerya mesnili* Chatton (1907) come una forma intermedia.

Sul gen. *Cœlosporidium* ritorna lo stesso Swarczewsky con alcune osservazioni su *C. periplanetae* [= *Pleistophora periplanetae* (Lutz e Splend.) = *C. blattellae* Crawley].

Tutto lascia credere che la sinonimia stabilita da Swarczewsky sia esatta; ma ciò che non appare è precisamente il rapporto tra questa forma e il gen. *Cœlosporidium*. Infatti, il riferimento a questo genere è fatto dell' autore con qualche riserva.

Rammentiamo che *C. blattellae* é stato riconoscinto da Léger (1909) come appartenente agli Endomicetozoi (gen. *Peltomyces*) e le osservazioni di Swarczewsky mi pare confeımino l'esattezza di questa sistemazione.

Ai caratteri segualati da Léger si aggiunge ora quello della presenza di una divisione riduttiva dei nuclei dello sporoblasto, prima della cariogamia, e questo serve a convalidare ancora la posizione sistematica del gen. *Peltomyces* a lato di *Plasmodiophora*.

Firenze, Marzo 1914.

Bibliografia.

Alexeieff, A. (1913): Recherches sur les Sarcosporidies. I. Étude morphologique. Arch. de Zool. expér. et gén. T. 51 Fasc. 5 p. 521.

Auerbach, M. (1910): Die Cnidosporidien. W. Klinkhardt ed., Leipzig.

Awerinzew, S. (1910): Über die Stellung im System und die Klassifizierung der Protozoen. Biol. Centralbl. Bd. 30 p. 465.

Brasil, L. (1905): Nouvelles recherches sur la reproduction des grégarines monocistidées. Arch. de Zool. expér. et gén. (IV) T. 4 p. 69.

Caullery, M. e Mesnil, F. (1905): Recherches sur les Haplosporidies. Ibid. (IV) T. 4 p. 101.

CAULLERY, M. e CHAPPELLIER, A. (1906): Anurosporidium pelseneeri n. g., n. sp., Haplosporidie infectant les sporocytes d'un Trématode parasite de Donax trunculus L. C. R. Soc. Biol. T. 60 p. 325.

CÉPÈDE, C. (1911): Le cycle évolutif et les affinités systématiques de l'Haplosporidie des Donax. C. R. Acad. Sci. Paris T. 153 p. 507.

— (1913): Les „Cytopleurosporés" (Cytopleurosporea) embranchement nouveau du Règne des Protistes. Ibid. T. 156 p. 574.

CHATTON, E. (1907): Caullerya mesnili n. g., n. sp., Haplosporidie parasite des Daphnies. C. R. Soc. Biol. T. 62 p. 42.

— (1908): Sur la reproduction et les affinités du Blastulidium pœdophtorum C. PÉREZ. Ibid. T. 64 p. 34.

— (1911): Sur une Cnidosporidie sans cnidoblaste (Paramixa paradoxa n. g., n. sp.). C. R. Acad. Sci. Paris T. 152 p. 631.

GIGLIO-TOS, E. e GRANATA, L. (1908): I mitocondrî nelle cellule seminali maschili di Pamphagus marmoratus (BURM.). Biologica Vol. 2 No. 4.

GRANATA, L. (1913): Ciclo di sviluppo di Haplosporidium limnodrili n. sp. Rend. R. Accad. dei Lincei Vol. 22 Ser. 5 p. 734.

— (1914): Le divisioni dei nuclei in Haplosporidium limnodrili. Ibid. Vol. 23 p. 109.

KING, H. D. (1907): Bertramia bufonis, a new Sporozoan parasite of Bufo lentiginosus. Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia Vol. 59 Part 2 p. 273.

KONSULOFF, S. (1912): Untersuchungen über die Rotatorienparasiten Bertramia asperospora FRITSCH. Arch. f. Protistenk. Bd. 27 H. 1 p. 48.

— (1914): Über Rotatorienparasit Bertramia euchlanis n. sp. Ibid. Bd. 33 H. 1 p. 45.

LÉGER, L. (1908): Mycétozoaires endoparasite des Insectes. Ibid. Bd. 12 p. 109.

— (1909): Mycétozoaire nouveau endoparasite des insectes. C. R. Acad. Sci. Paris 19 juillet.

LÉGER, L. e DUBOSCQ, O. (1909): Études sur la sexualité chez les grégarines. Arch. f. Protistenk. Bd. 17 p. 19.

— — (1909): Sur les Chytridiopsis et leur évolution. Arch. de Zool. expér. et gén. (5) T. 1 N. et R. p. 9.

— — (1910): Selenococcidium intermedium LÉG. et DUB. et la systématique des Sporozoaires. Ibid. (5) T. 5 p. 187.

MRÁZEK, A. (1910): Sporozoenstudien. Zur Auffassung der Myxocystiden. Arch. f. Protistenk. Bd. 18 H. 3 p. 245.

MULSOW, K. (1911): Über Fortpflanzungserscheinungen bei Monocystis rostrata n. sp. Ibid. Bd. 22 H. 1 p. 20.

PETTIT, A. (1913): Observations sur l'Ichthyosporidium et sur la maladie qu'il provoque chez la Truite. Ann. Inst. Pasteur Paris, 27 année T. 26 No. 11.

POCHE, F. (1913): Das System der Protozoa. Arch. f. Protistenk. Bd. 30 H. 3.

PROWAZEK, S. v. (1905): Über den Erreger der Kohlhernie Plasmodiophora brassicae. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt Bd. 22.

— (1913): Studien zur Biologie der Protozoen. VI. Arch. f. Protistenk. Bd. 31 H. 1 p. 47.

ROBERTSON, M. (1907): Notes upon a Haplosporidiacea belonging to the genus Ichthyosporidium. Proc. R. Phys. Soc. Edinburgh Vol. 17 p. 175. V. anche Proc. Zool. Soc. London 1909.

SCHRÖDER, O. (1907): Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Myxosporidien Sphaeromyxa labrazesi (LAV. et MESN.). Arch. f. Protistenk. Bd. 9 H. 2 u. 3 p. 359.

Swarczewsky, B. (1914): Über den Lebenscyclus einiger Haplosporidien. Ibid. Bd. 33 H. 1 p. 49.

Trégouboff, G. (1913): Sur un Chytridiopside nouveau (Chytridioides schizophylli n. g., n. sp.) parasite de l'intestin de Schizophyllum mediterraneum Latzel. Arch. de Zool. expér. et gén. T. 52 N. et R. No. 2 p. 25.

Spiegazione delle Tavole 2—4.

Le figure sono state disegnate con l'Obb. apocrom. Zeiss Imm. omog. 2 mm, ap. 1, 3, o col Semiapocrom. Koriscka $^1/_{15}$; oculari comp. 4, 8, 12, 18; tubo evaginato 160 mm; proiezione sul tavolo da lavoro con la camera chiara Abbe. Sarà indicato per ognuna l'ingrandimento approssimativo.

Per le figure tolte da preparati permanenti fissati sarà indicata con S la fissazione con Sublimato alcoolico di Schaudinn, con B quella con Formol-picro-acetico alcoolico secondo Brasil; la colorazione è sempre con Ematossilina Ferrica unita ad Eosina, Fucsina o Verde luce.

Tav. 2.

Fig. 1—3. Giovani individui mononucleati (?) in cellule epiteliali. S. × 850. La fig. 2 mostra il nucleo della cellula ospite deformato dalla compressione del parassita; la fig. 3 il nucleo ipertrofizzato.

Fig. 4. Individui plurinucleati nell' epitelio. B. × 850.

Fig. 5. Linfocito invaso da 2 parassiti. A fresco. × 900.

Fig. 6. Parassita in disfacimento, inglobato da linfociti. A fresco. × 900.

Fig. 7. Parassita con 4 nuclei. Carminio acetico. × 900.

Fig. 8. Plasmodio plurinucleato (serie a nuclei grandi). B. × 850.

Fig. 9. Plasmodio plurinucleato (serie a nuclei piccoli). B. × 850.

Fig. 10. Plasmodio con 4 nuclei. B. × 1800. Colorazione con Ematoss. ferrica molto differenziata per mostrare la sostanza acromatica dell' asse cilindrico.

Fig. 11. Nuclei grandi con cariosoma ed asse cilindrico cromatico. S. × 1800.

Fig. 12. Nuclei veduti in sezione trasversale. B. × 1800.

Fig. 13—17. Varî aspetti dei nuclei in riposo. Fig. 13 e 16 S; 14, 15, 17 B. × 3500.

Fig. 18. Varî aspetti del cariosoma nei nuclei in riposo. S. × 3500.

Fig. 19. Inizio della profase. B. × 3500.

Fig. 20. Profase avanzata. B. × 3500.

Fig. 21. Plasmodio con 3 nuclei in profase. B. × 1800.

Fig. 22. L'asse cilindrico si dilata mentre procede l'addensamento del reticolo. B. × 3500.

Fig. 23. Plasmodio con nuclei in metafase. B. × 1800.

Fig. 24. Metafase.

Fig. 25. Inizio dell' anafase. B. × 3500.

Fig. 26. Plasmodio con nuclei in diversi stadi di anafase. S. × 1800.

Tav. 3.

Fig. 27—32. Stadî ulteriori di divisione. B. × 3500; la fig. 30 × 1800.
Fig. 33. Plasmodio con nuclei in teleofase. B. × 1800.
Fig. 34. Espulsione dei resti del fuso. S. × 1800.
Fig. 35. Plasmodio con nuclei all' inizio della ricostituzione. B. × 1800.
Fig. 36. Inizio della ricostituzione. B. × 1800.
Fig. 37. Plasmodio con nuclei ricostituiti. B. × 1800.
Fig. 38. Nucleo ricostituito. B. × 3500.
Fig. 39—43. Varie fasi di divisione nei nuclei piccoli. S. × 1800.
Fig. 44. Plasmodio con 2 nuclei in divisione. S. × 1800.
Fig. 45. Plasmodio con 4 nuclei in divisione. B. × 1800.
Fig. 46. Schizogonia. B. × 1800.
Fig. 47. Ultima divisione dei nuclei in un gametocite. B. × 1800.
Fig. 48. Inizio della separazione dei gameti. B. × 1800.
Fig. 49. Gameti individualizzati, in una cellula ipertrofizzata che sporge nel lume intestinale. S. × 1800.
Fig. 50. Cisti con gameti liberi. B. × 1800.

Tav. 4.

Fig. 51. Gameti accoppiati. S. × 1800.
Fig. 52. Corpi binucleati. Inizio della fusione dei gameti. B. × 1800.
Fig. 53 e 54. Fusione dei gameti. B. × 1800.
Fig. 55. Cisti con gameti in copulazione. A fresco. × 900.
Fig. 56. Cariogamia. S. × 1800.
Fig. 57—60. Epurazione nucleare. S. × 2600.
Fig. 61. Syncaryon. S. × 3500.
Fig. 62. Uno sporoblasto a fresco. × 900.
Fig. 63. Cisti con sporoblasti. S. × 1800.
Fig. 64 e 65. Formazione delle spore. Carminio acetico. × 900.
Fig. 66. Spore quasi mature. S. × 1800.
Fig. 67. Sporangio con spore mature. × 900.

A Preliminary Communication on three new Proteomyxan rhizopods from Soil.

By

T. Goodey, M. Sc.,
Protozoologist
Research Laboratory in Agricultural Zoology University of Birmingham.

(With plates 5—8.)

Contents.

	page
1. Introduction	81
2. Methods	82
3. Descriptions of organisms	83
I. *Leptomyxa reticulata* nov. gen., nov. spec.	83
a) Structure	83
b) Movements	84
c) Nutrition	84
d) Multiplication	85
e) Encystation	86
f) Excystation	87
II. *Leptomyxa flabellata* nov. gen., nov. spec.	88
a) Structure	88
b) Movements	89
c) Nutrition	90
d) Multiplication	90
e) Encystation	90
f) Excystation	91
III. *Gephyramoeba delicatula* nov. gen., nov. spec.	92
a) Structure	92
b) Movements	92
c) Nutrition	93

page
d) Multiplication 93
e) Encystation 93
f) Excystation 93
4. Systematic 94
Literature References 100
Explanation of Plates 101

---

1. Introduction.

The organisms dealt with in this paper occurred in cultures made from soil by means of an agar plate method. The largest form was first noticed in March, 1913 on plates of 0,5 % nutrient-bouillon agar inoculated with soil from a cucumber house at Harpenden in Hertfordshire. A similar but smaller form was noticed at about the same time on a plate inoculated with soil from a Vinery in Hampshire whilst the third and smallest form was first noticed in a sub-culture made for the cultivation of the largest organism. Later on, the first two forms were recognised by their cysts as occurring in both cucumber and vinery soil.

Quite recently cultures have been made with other soils from Edgbaston Birmingham and Great Barr in Staffordshire with the result that all three organisms have been found again. The soils tested have been, on the whole, rich, receiving large quantities of farm-yard manure. It appears probable therefore that these organisms are of wide occurrence and will be found to be fairly common.

I have made a number of interesting observations on them and have succeeded in working out some stages of their life-histories sufficient in fact to show that they are new members of the Rhizopoda and to warrant the publication of a preliminary account dealing with my observations as far as they have gone at present.

Unfortunately I have been unable up to the present time to ascertain the process of nuclear division in any of the organisms. As however this is a matter which requires prolonged observation and the examination of a large number of permanent preparations, I have thought it advisable to publish an account of my observations as far as they have gone at present.

I am pursuing cytological investigations on all of them in order to work out the stages of nuclear division and other points in their life-histories an account of which I hope to publish later on.

---

2. Methods.

The principal medium which has been used in the cultivation of the organisms is an agar one consisting of tap-water 90 cc. nutrient-bouillon 10 cc. and agar varying from 0,5 gr to 1,0 gr.

After being poured into sterile Petri dishes the medium is inoculated with a small quantity of soil and then imcubated at 20° C for some days. Examination of the plates shows the organisms in the course of a few days. Subcultures are easily made by cutting out a piece of agar from the original culture and inoculating on to other plates. In this way a good stock of the organisms can be obtained; multiplication proceeding for some time to be followed finally by encystation. Hanging-drop preparations have been made by transplanting either active organisms or cysts from the stock cultures into drops of egg-albumen and 1 % hay-infusion or on to thin smears of agar. The cover-slip with its drop or smear is inverted over the hollow of a cavity slide and waxed round with the hot wick of a candle and then incubated at 20° C. At 25° C in hay-infusion and egg-albumen toxic substances are produced by bac terial activity, which check growth and finally kill the organisms. Permanent preparations can be made from hanging-drop cultures and for this purpose the cover-slips are lifted and dropped on to the surface of the fixative solution and then treated in the usual way. The fixatives chiefly used are Schaudinn's sublimate-alcohol, and Maier's fluid consisting of distilled water 1000 cc. absolute alcohol 100 cc., Sodium Chloride 1,2 gr, Corrosive sublimate 10 gr; whilst for staining, Heidenhain's iron-haematoxylin has been used almost entirely because of the consistently excellent results it yields. Occasionally lichtgrün-picric has been used as a counter-stain.

A great deal of time has been spent in examining the living organisms. This has been quite easily carried out even under the high-power because as a rule the organisms spread themselves out well in hanging-drops. Too much importance cannot be attached to this

method of investigation for practically all the detailed structure of the protoplasm as well as the nuclei can be made out in this way. It is shown later on that the nucleus or nuclei can be seen to undergo constrictions and deformations of all kinds caused by the movements of the organism. If fixed and stained material only were examined without reference to observations on living specimens these constricted forms might easily be interpreted as stages in the division of the nucleus.

3. Descriptions of Organisms.

I. *Leptomyxa reticulata* nov. gen. et nov. spec.

a) Structure.

When seen growing in nutrient-bouillon agar *Leptomyxa* has a curious waxy translucent appearance. The protoplasm is very compact and often disposed in an irregularly branched and dendritic manner so as to resemble a portion of the sea-weed *Chondrus crispus* (Charageen) in minature (fig. 1). It was-this appearance which first attracted my attention to it. In this condition protoplasmic movement is extremely slow and it is only after careful observation that one sees that the organism is slowly and persistently changing its shape.

After transplantation from agar into a liquid medium *L. reticulata* goes into what is no doubt its normal shape and condition, by stretching out into a thin sheet of almost transparent protoplasm. This may take on an innumerable number of shapes from a continuous unbroken sheet, often somewhat crescentic in outline (fig. 4) to irregular fantastic shapes having long anastomosing branches with finely pointed, delicate pseudopodia (fig. 3). The irregular branches frequently fuse with one another so as to enclose empty spaces or fenestrae. The protoplasm is finely granular in structure having as a rule no conspicuous vacuoles or other large inclusions. I have been unable to distinguish any foam-like or alveolar structure in the protoplasm either in the living or stained condition At the advancing edge there is a marked distinction into a clear ectoplasm and finely granular endoplasm (fig. 4). In this respect it differs from *Biomyxa vagans* Leidy (1879) which showed no differentiation into ectoplasm and endoplasm. Contractile vacuoles are

numerous and minute and can be observed in systole and diastole all over the organism. When examined under the high power, numerous small refringent circular areas can be distinguished and on carefully observing each one, a central denser portion can be made out; these are the nuclei each having a karyosome. Stained examples show that the nucleus consists of a central deeply staining mass, the karyosome, surrounded by a clear zone which is often somewhat oval or spindle shaped and does not seem to possess a definitely stainable membrane. Some sort of membrane is however present for the nuclear sap is quite distinguishable from the surrounding cytoplasm.

The process of nuclear division is quite obscure at present but from the examination of a large number of living and stained specimens it seems that some process of fragmentation of the karyosome takes place. However, I have yet to pursue the matter much further to elucidate it.

b) Movements.

As would be anticipated from the large size and peculiar branching reticulate shape of *L. reticulata*, its movement is not always one of definite progression in a given direction. I have never observed it moving after the manner of *Amoeba proteus* or *Amoeba limax*.

When it assumes a crescentic shape there is then found a convex advancing edge of ectoplasm which simply creeps over the surface of the substratum. This appearance may however be changed quite quickly and the organism take on a ramifying branched character. It is then seen that the endoplasm steams backward and forward, hither and thither showing no progressive movement.

I have observed on some occasions a rapid reaction to the stimulus of bright light. When a hanging-drop containing well expanded specimens is brought on to the stage of the microscope with an intense artificial illumination the organisms will often draw in their arms and branches quickly, and then after a time begin to spread out again. This sudden retraction does not always take place however.

c) Nutrition.

The method of nutrition is holozoic and the food consists principally of bacteria which are ingested as the organism creeps about (fig. 6). The food vacuoles formed with bacteria are never very conpicuous. If small amoebae and flagellates are present in the

culture these also may be ingested. In those preparations of *L. reticulata* made early in the investigations before it had been obtained in pure culture, flagellates and small amoebae with their cysts are frequently recognisable. Figs (7 and 8) show a *Leptomyxa* in the process of ingesting an amoeba. The undigested remains of organic substances taken into the organism can often be seen, especially in the crescent shaped forms, collected at a point midway along the posterior margin of the organism. These masses of defecated matter are gradually left behind by the advancing organism.

d) Multiplication.

L. reticulata reproduces by a process of simple plasmotomy, each daughter organism frequently containing a large number of nuclei. Fig. (9) is a photomicrograph of a fixed and stained specimen which has just divided. It will be seen in this case that two almost equal portions of the parent organism have gradually drawn apart remaining connected with each other by a strand of protoplasm which gets thinner and thinner until it finally breaks at the thinnest point.

The break does not always occur at a very attenuated portion of the connecting strand but sometimes occurs close to one of the daughter portions; the rest of the strand being drawn into the other fission product. As a general rule the process of plasmotomy is slow and occupies some minutes so that it can be easily watched. At other times I have seen it take place rapidly; one fairly large organism producing several smaller ones in the course of a few minutes. The whole process does not seem to bear any relation to nuclear division for in all the cases which I have observed there has been no immediately preceeding nuclear division. The following observations which were carried out on a hanging-drop preparation almost continuously over a period of nine hours are worthy of notice. They were undertaken in order to detect nuclear division if such were proceeding during the night, beginning at 9 p. m. and finishing at 6 a. m.

The organisms were the product of one which had emerged from a resting-cyst during the day time (fig 4). Nuclear division was not observed during the whole 9 hours, and there was very little likelihood of my missing it because the nuclei are easily distinguishable in life under conditions of proper illumination and careful focussing (fig. 3). Plasmotomy was however observed and, what is also very interesting, plastogamy or the fusion of some of

the resultants of various divisions took place in a few cases. During the course of the day and by 12.30 a. m. seven organisms had been produced from the one original product of excystation. By 1 a. m. there were eight forms present; by 1.20 a. m. nine, two of which were quite small, by 1.50 a. m. eleven, three of which were small. At 2 a. m. a small fragment was seen to fuse with a large form close by. At 2.17 a. m. there were eleven present, four of which were small; at 2.33 a. m. twelve were found, five being very small. At 3.14 a. m. the fusion of two large portions was watched. They gradually approached each other and by careful observation under the high power it was seen that when they came quite close, fine strands of delicate ectoplasm were sent across the intervening space. These strands quickly became thicker and the endoplasm of each became merged into one large organism. By 3.17 a. m. the fusion was complete. At 3.35 a. m. ten forms were present, fusion of two smaller forms having taken place. These ten remained till 5 a. m. by which time one had divided and produced eleven. At 5.30 a. m. two more fusions had taken place and nine forms only were present, whilst et 6 a. m. only eight forms were present.

The process of complete plastogamy is not surprising when it is remembered that all the forms present in the culture were the product of one individual and had been derived from it in the course of a few hours. It was not followed by any process of nuclear fusion or karyogamy, and may be compared to the temporary plastogamy which has been observed in some thecamoebae and helizoa. I have never observed it in other cultures but it is not impossible that it may take place and give rise to the very large *Leptomyxa* which I have found sometimes on the surface of agar plates, reaching 1 mm. in length. Möbius (1888) in his account of a marine *Biomyxa* describes how one form divided and after fifteen minutes the two portions fused again completely.

e) Encystation.

After *L. reticulata* has been growing for some time in an agar culture or other suitable medium it undergoes encystation. The process is quite slow, occupying several days. It can be seen that the branching protoplast is gradually drawn together into a rather dense and at first an irregular mass. This becomes more and more rounded and secretes an outer cyst membrane. This outer wall or ectocyst is often of varying thickness as shown in figs. 4 and 10. The contents of the cyst continue to contract and after a time a

second and sometimes a third wall is secreted, the endocyst (fig. 10). This very closely invests the protoplast which is now quite dense and fairly granular. The endocyst is transparent and generally round in outline. In the great majority of cases each ectocyst only encloses one endocyst but I have found a few cases in my cultures where the organism, after secreting the ectocyst, has divided and produced sometimes two, in one case three and in another five portions each with a separate endocyst. Fig. 4 shows an empty cyst with three endocysts. This last is dealt with in the next section on excystation.

This doubled-walled cyst resembles somewhat that of the Süßwasserplasmodium of Cienkowski (1876).

f) Excystation.

When the cysts are transplanted on to fresh nutrient agar or other suitable media, excystation takes place.

This method of dealing with cysts has proved very useful in obtaining cultures *L. reticulata* free from other protozoa. After teasing up a piece of agar containing cysts in a drop of distilled water, the cysts can be isolated by a capillary pipette and then inoculated on to the required medium. As a rule the enclosed organism escapes within twenty-four hours when the culture is incubated at 20 ° C. I have not been able to follow the exact process by means of which *Leptomyxa* makes its way out of the two cyst membranes, but it seems as if it digests a small portion of each wall by means probably of some enzyme which it secretes and then emerges through the apertures so provided.

It is not a process similar to that occurring in *Colpoda cucullus* where I have shown (1913) that the whole of the endocyst is completely digested, for in *L. reticulata* the endocyst is left behind within the ectocyst as shown in fig. 4. The product of excystation is the original organism which is exactly similar to the ordinary trophic stage of *L. reticulata.* Fig. 4 represents a specimen which has just emerged from a cyst. This is the example which was watched for nime hours as described above. This cyst contained three endocysts which yielded their contents simultaneously and produced one large organism, not three separate ones as might have been expected.

In another case a large and very irregular cyst containing five endocysts was found in an old agar culture. This was isolated and inoculated into a hanging-drop. On the following day excy-

station was observed to be in progress. Two active forms were already present when the observations were begun and another organism was observed in process of emergence from the cyst. In this case therefore three organisms were produced from the contents of five apparently distinct endocysts.

Cienkowski (1876) mentions that he saw the excystation of the completely unaltered contents from the doubled walled cysts of his fresh-water plasmodium.

II. *Leptomyxa flabellata* nov. spec.

a) Structure.

When growing in an agar medium of soft consistency *L. flabellata* presents a fairly compact appearance, having a very irregular outline. Transplanted into hanging-drops of liquid or when growing on the surface of agar it spreads itself out into a thin very delicate sheet of protoplasm which incessantly changes its shape. The protoplasm is very transparent and finely granular and shows a distinction, especially at the advancing edge, into a clear hyaline ectoplasm and a more granular endoplasm (fig. 11).

The organism takes on innumerable shapes; sending out irregular somewhat radiate and pointed pseudopodia. These however do not anastomose as in *L. reticulata* so as to produce the reticulate appearance. Very frequently the advancing edge of the *L. flabellata* is convex and slightly indented, broad and spread out like a fan, whilst the rest of the organism is rather drawn out into a handle-like portion. It is on the strength of this character which is practically constant that I have chosen the specific name *flabellata* i. e. resembling a fan.

Numerous small contractile vacuoles are scattered throughout the endoplasm; a few sometimes flow together and form larger ones towards the median point of the posterior edge at which point also the defecated debris from the food vacuoles congregates. This debris is gradually left behind as the organism advances.

L. flabellata varies considerably in size from 60 μ to 150 μ. The smaller forms as a rule only having one or two nuclei whilst the larger ones have many nuclei, from 7 to 12 or 14. The nuclei are easily distinguishable in the living organism as pale grey

areas rather oval in outline and when examined under the high power a central denser portion, the karyosome, can be distinctly seen. They are much larger and more distinct than the nuclei of the *L. reticulata.* They also vary a good deal in size, in some cases being rather small and rounded, and in others large and oval or irregularly ovoid. The karyosome is surrounded by a clear zone of nuclear sap which is separated from the endoplasm by a delicate nuclear membrane.

On a few occasions when *L. flabellata* was growing in a liquid medium it took on a definite *Amoeba limax* appearance, as in fig. 13 having a single large lobose psoudopodium. This form had but recently excysted; the surrounding medium being a mixture of saline egg-albumen and 1 $^0/_0$ hay-infusion. At another time four recently excysted forms in the same kind of medium were found in the *limax* condition and these occasionally took on the more diffuse appearance. I am not able to explain these phenomena but I think it highly probable that they are connected with some peculiar physiological condition of the organism induced by the conditions of the surrounding medium

b) Movements.

In a good healthy culture *L. flabellata* is frequently in active motion which is more one of progression than that of *L. reticulata.* At the same time it is frequently a diffuse type of movement; the advancing edge of ectoplasm breaking and branching out in various directions and the more granular endoplasm streaming along after it.

In those exemples which were seen in the typical *limax* condition the movement was characteristically amoeba-like; the rounded lobose ectoplasmic pseudopodium progressing steadily forward followed by the rest of the organism. It was noticed on several occasions when active organisms were being watched under the high power that during progression the nucleus or nuclei moved about in the endoplasm to various parts of the body sometimes appearing to lag a little behind the general motion. When the protoplasm became constricted and a nucleus passed through the narrowed region it too became drawn out into a narrow elongated body, the karyosome lagging behind in the nuclear sap. These facts impress one with the extreme difficulty of attempting to draw conclusions concerning the process of nuclear division from stained material only.

c) Nutrition.

As in the case of *L. reticulata* the nutrition of *L. flabellata* is holozoic and the principal source of food is bacteria. The food vacuoles are not large and conspicuous. Frequently in stained specimens it is difficult to distinguish the ingested bacteria from the granules of endoplasm. *L. flabellata* also ingests small amoeba and amoeba-cysts when these are present in the culture and there can be no doubt that the non-encysted forms serve as a source of food. Fig. 17 shows a specimen containing several rounded small amoebae and one in the process of ingestion.

d) Multiplication.

L. flabellata reproduces by simple plasmotomy. I have followed the process closely in the living organism; fig. 12 being a drawing made as the division was going on, whilst fig. 19 represents a similar stage to fig. 9 in *L. reticulata.* In this latter case the organism was growing in an agar-film hanging-drop. As the process was slow it was easily watched and when it had reached the required stage the preparation was fixed. It will be seen that the parent organism separated into two practically equal halves which gradually drew away from each other, remaining connected by a long strand of protoplasm which became more and more attenuated and finally broke at the thinnest point. One portion contains one nucleus whilst the other contains nine nuclei. In the case represented by fig. 12 which was also growing on the same agar hanging-drop the large parent organism gradually constricted off a small uninucleate portion in the posterior region. This resembled for a long time the handle of a fan, the main portion of the organism representing the fan proper. The process from start to finish occupied several minutes. In another case an organism was found containing four nuclei and this gave rise to two organisms each containing two nuclei, though in this case the actual division was not watched.

I have been unable up to the present to follow the process of nuclear division.

e) Encystation.

When the conditions of the surrounding medium become no longer favourable to further trophic existence, *L. flabellata* proceeds to encyst. What the particular conditions are that induce this I

cannot say for the whole physiology of the process is entirely obscure.

The protoplasm becomes contracted into the form of a rounded mass, which then begins to secrete a surrounding membrane and this later on becomes the ectocyst. The latter in its final completed condition is a very distinct membrane which shows lamellations indicating that it has been formed in layers. It is raised up at various points into well marked prominences which give it quite a characteristic appearance and furnish a sure guide for distinguishing the cysts from those of *L. reticulata.*

The contractile vacuoles remain functional for some considerable time and no doubt play a part in the extrusion of particles of debris from the protoplasm as in the case of the ciliate *Colpoda cucullus.* The defecated matter comes to lie in the space separating the ectocyst from the endocyst. The latter is a simple transparent layer closely investing the rounded protoplast. Fig. 18 is a photomicrograph of a complete cyst which was formed in a hanging-drop culture. The prominences of the ectocyst are distinctly seen as is also the mass of defecated debris lying in the space between the ectocyst and endocyst.

In no case have I encountered cysts having a double or triple endocyst as in *L. reticulata.*

f) Excystation.

Exactly the same method has been used for isolating the cysts of *L. flabellata* as for *L. reticulata.* Small pieces of agar containing the cysts are teased out in water and then the cysts are picked up by means of a capillary pipette and inoculated into a hanging-drop of some sort or on to another agar plate. By this means also *L. flabellata* can be obtained free from other kinds of protozoa.

Excystation usually takes place within twenty-four hours when the cultures are incubated at 20 ° C. The organism escapes from the confines of the endocyst by means of a narrow aperture which I believe, it produces by means of a ferment secreted at the particular spot. At any rate the endocyst is left behind within the ectocyst and can easily be seen in empty cysts (fig. 13).

An aperture too is produced in the ectocyst at some point and through this the organism makes its way into the surrounding medium. The product of excystation is the original organism again. No process of division has been found in any of the cysts so far examined.

III. *Gephyramoeba delicatula* nov. gen., nov. spec.

a) Structure.

Gephyramoeba was first encountered in a sub-culture made for the cultivation of *L. reticulata.* I considered it at first as a small specimen of the latter, but as it was found that the smaller form multiplied and remained small, specimens were examined in hanging-drop cultures when it became evident that a distinct organism was being dealt with.

It is a very delicate rhizopod taking on a variety of shapes produced by means of its long, branching and narrow arm-like pseudopodia. I have never seen it assume a *limax* appearance as did *L. flabellata.* Figs. 14 and 15 show good examples of the organism. There is a distinct ectoplasm at the advancing edge marked off from the finely granular endoplasm. The former is practically transparent whilst in the latter I have rarely detected anything of a coarse nature or any large inclusions. Contractile vacuoles are small and numerous occurring at any point in the endoplasm. There is only one nucleus which is ovoid and consists of a rather large greyish karyosome surrounded by the clear nuclear sap and limited by a delicate membrane.

The organism varies considerably in size, small forms being about 60 μ in length and large forms 150 μ to 250 μ from the tip of one arm across to the end of the other. The latter are frequently narrow; only measuring 3 μ or 4 μ in width.

b) Movements.

The movements of *Gephyramoeba* are essentially similar to those already described for the two species of *Leptomyxa.* It is slow and of a diffuse character; the ectoplasm stretching out in a thin sheet at the end of some of the pseudopodial arms, being followed closely by the endoplasm. During motion the nucleus moves, as in *L. flabellata* to various parts of the organism and the karyosomé lags behind in the nuclear sap, generally occupying the posterior end of the nucleus.

The latter is capable of considerable distortion when the protoplasm becomes constricted, the whole nucleus then becoming long and narrow or pinched in at the point of constriction. This is well seen in fig. 21 taken from a stained example just as the nucleus was going round a curve. It is seen that the karyosome is drawn

out into two portions connected by a narrow strand. Had I not witnessed a similar process in the living organism I might have been inclined to consider this particular example as exibiting nuclear division.

c) Nutrition.

The source of food is bacteria which grow abundantly in the medium used for the cultivation of the organism. In two or three of the hanging-drop cultures an extremely small amoeba swarmed and in the preparations made from these cultures ingested amoeba can be found, some partially digested whilst others can be seen in the process of ingestion by the pseudopodia (fig. 20).

d) Multiplication.

I have not been fortunate enough to observe the actual process of division in *Gephyramoeba*, but I am practically certain it is one of simple fission. I think too, that it takes place rather rapidly for in the case of one specimen recently excysted which I had been observing closely for some time, I had occasion to attend to some other matter for a short time and when I returned to the microscope there were two uninucleate organisms where before there had only been one.

e) Encystation.

This process takes place quite regularly after the organisms have been growing and multiplying for some time. The protoplasm contracts into a spherical or oval mass which then secretes a practically transparent wall. This is rather thin in comparison with the size of the cyst and is the only cyst membrane which is laid down. At any rate from the examination of old cultures in which very many cysts occurred I have been unable to make out an inner or endocyst wall. The single cyst membrane shows no prominences of any kind.

f) Excystation.

When cysts are transferred to agar plates or hanging-drops excystation takes place within twenty four hours. The organism within the cyst digests a small portion of the surrounding wall at some particular spot and then creeps out of the cyst. Fig. 14 shows an empty cyst with the aperture through which the organism close by has made its excape. Fig. 15 shows a *Gephyramoeba* clinging

to the outside of the cyst from which it has just escaped. Excystation was watched for some time in this case and the drawing was made just as the whole organism became free. There appears to be no process of division in the cyst; the whole original organism escaping again to continue trophic existence.

---

4. Systematic.

In attempting to assign the three organisms just described to definite systematic positions one is confronted with an almost insurmountable difficulty. The genus *Amoeba* is notoriously a mixed and, one might almost say, a chaotic one; scarcely any of the standard works on Protozoa agreeing as to what exactly should be classed under the generic name Amoeba. This of course is not surprising considering the protean nature of the organisms. Moreover the organisms which appear to resemble *Leptomyxa* and *Gephyramoeba* most closely are so imperfectly known, except in the case of *Arachnula* which is dealt with further on, that it has been impossible for me to identify my organisms with any of them. For this reason I have felt that the only satisfactory course open to me was to create new genera, a course which I have been reluctant to adopt because I appreciate the possibility of adding still greater confusion to that already existing in this mixed assemblage of lowly organisms.

The systematic position of the three organisms is shown in the following scheme adopted from Minchin (1912).

Phylum: Protozoa
Class: Sarcodina
Subclass: Rhizopoda
Order: Amoeboea
Suborder: Reticulosa (Proteomyxa)
Genus: *Leptomyxa* (nov. gen.)
Species: *reticulata* (nov. spec.)
Genus: *Leptomyxa*
Species: *flabellata* (nov. spec.)
Genus: *Gephyramoeba* (nov gen.)
Species: *delicatula* (nov. spec.)

Diagnoses.

Leptomyxa reticulata. Naked rhizopod, varying roughly from 40 μ or 60 μ to 1 mm. in greatest breadth. Protoplast spreading out into a thin sheet branching and anastomosing so as to enclose fenestrae; pseudopodia often filose and delicate; contractile vacuoles numerous and minute. Multinucleate, with numerous small nuclei each possessing a comparatively large karyosome. Encystation into large double-walled cysts, each ectocyst as a rule containing only one endocyst; occasionally two or three endocysts present. Excystation of original organism even from those cysts containing more than one endocyst.

Leptomyxa flabellata. Naked rhizopod varying from about 60 μ to 150 μ in breadth. Protoplast spreading out into a thin sheet and frequently resembling a fan in outline; pseudopodia filose but not anastomosing; contractile vacuoles numerous and minute. Multinucleate, possessing from 1 to 12 or 14 nuclei, larger than those of *L. reticulata* each having a large karyosome, Encystation into double-walled cysts, the ectocyst showing well defined promenínces: never more than one endocyst in each ectocyst. Excystation of original organism.

Gephyramoeba delicatula. Naked rhizopod varying from 60 μ to 250 μ from tip to tip of extended arms. Protoplast stretching out as a thin sheet and producing long narrow arms 3 μ or 4 μ across; contractile vacuoles numerous and minute. Nucleus single, with large karyosome. Encystation into single-walled resting-cyst. Excystation of originål organism.

Although *Gephyramoeba* possesses a single nucleus which brings it perhaps under the genus Amoeba, yet the character of its pseudopodia and its numerous contractile vacuoles give it affinities with the members of the Reticulosa in which category I propose to place it. A point of some interest is that in this form we are presented with a connecting link between the genus Amoeba and the members of the Reticulosa, and for this reason the generic name *Gephyramoeba*, signifying a bridge form, has been chosen.

Some account is necessary of the forms described by other investigators, which most nearly resemble the three organisms dealt with in this paper. Dealing first with forms resembling *Leptomyxa reticulata* the following descriptions are interesting.

Max Schultze (1854) described an *Amoeba porrecta* occurring in the Adriatic sea. It was very changeable in appearance but no contractile vacuoles or nuclear structure could be made out.

Lieberkuhn (1872) p. 376 gives a short account of rhizopod-like organism which occurred among Spongilla. It was practically transparent and motionless and was made up of thin branching strands of protoplasm which were united so as to form a network. It contained contactile vacuoles situated for the most part at the edges of the strands. These gave off radiating channels into the surrounding protoplasm during the course of diastole. Other non-contractile vacuoles were found in the network but no foreign particles of any kind were made out in it. Fig. 38 on his Tf. iv. shows a curiously branched network with small contractile vacuoles. In general appearance this resembles *L. reticulata* but the practically motionless character of the protoplasm and the occurrence of contractile vacuoles only at the edges of the strand mark it off from *L. reticulata.*

Cienkowski (1876) gives an interesting account of a fresh-water plasmodium ocourring amongst algae, chiefly Tetraspora. It possessed a clear, almost colourless, granular protoplasm and produced radiating branching pseudopodia. Numerous small contractile vacuoles were present and the protoplasm was rather slow in movement. Small nuclei were said to be present but they were made out with difficulty; treatment with reagents not helping much in rendering them more visible. From the figures the round bodies marked "n" appear to be much larger and fewer in number than the nuclei of *L. reticulata.* Encystation and excystation were observed as already mentioned earlier in this paper. Judging from the description and figures which Cienkowski gives I think it is possible that he was dealing with an organism very similar to and perhaps identical with *L. reticulata.*

He did not however name his plasmodium, doubtless, because he looked upon it as a true representative of the Mycetozoa and considered that, given the right conditions, it would have produced sclerotia or a sporangiate condition; on which evidence he would perbaps have supplied a suitable name.

Arachnula impatiens Cienkowski (1876) has recently been investigated by Dobell (1913) who has worked out pretty completely the course of its life-history. I am satisfied that the life-histories of my organisms, incomplete though they are at present particularly in respect to the nuclear changes, differ in many important respects

from that of *Arachnula* as elucidated by DOBELL. The chief points of difference are set out below.

Arachnula.	*Leptomyxa and Gephyramoeba.*
Reproduction within special "reproductive cysts".	*Reproduction* by plasmotomy and simple fission.
Encystation into two kinds of cysts "reproductive" and "digestive".	*Encystation* into resting cysts.
Excystation of original organism from "digestive-cysts" and of smaller forms from "reproductive cysts".	*Excystation* of original organisms.
Protoplasm restless, rapidly moving.	*Protoplasm* slowly and steadily moving.
Nucleus with very small karyosome and thin peripheral layer of chromatin.	*Nucleus* with large karyosome and no peripheral chromatin in all cases.

I have paid particular attention to the numerous cysts of all three organisms in my old cultures in order to determine whether the contents showed signs of breaking up into what might be looked upon as reproductive phases. Except for a few cysts or *L. reticulata* here and there showing two and three endocysts I have failed to discover anything at all comparable with the "reproductive cysts" of *Arachnula.* These cysts showing two and three or more endocysts can scarcely be considered as reproductive forms for, as I have described above under Excystation p. 87. I saw the simultaneous emergence of the contents of three endocysts which fused together and produced one large organism.

Biomyxa vagans LEIDY (1879) from sphagnum bogs is described by him as follows p. 281. "Body at rest spheroidal, oval or botuliform, in motion of everchanging form. Pseudopodial prolongations usually as filaments mostly bipolar of variable form and length, branching and anastomosing forming an irregular network. Pale granular protoplasm with oil molecules and numerous contractile vacuoles. Nucleus when present large distinct clear or faintly granular". On p. 282. "It moves slowly incessantly and evenly. From a more or less central mass it spreads itself out into a sheet of irregular form". And further "There is no distinction between endosarc and ectosarc the whole structure being homogeneous, pale and finely granular protoplasm. The chief points of resemblance to *Leptomyxa* are the everchanging branching and anastomosing pseudopoidial prolongations

the possession of numerous small contractile vacuoles and the pale granular protoplasm.

The absence of any distinction between endoplasm and ectoplasm in *Biomyxa* marks it off from *Leptomyxa.* His fig. 1 Pl. XLVIII is very much like my *L. reticulata* in its extended condition. The presence of a single large nucleus in some of the forms observed by LEIDY also sharply distinguishes *Biomyxa* from *Leptomyxa.* On this point however I am inclined to think from the figures that in the nucleated forms LEIDY was dealing with an organism distinct from the forms in which no nucleus was discernible.

GRUBER (1884) in dealing with LEIDY'S *Biomyxa vagans* considers it synonymous with MAX SCHULTZE'S *Amoeba porrecta.* He himself describes an amoeboid and heliozooid form, the former having radiate pseudopodia rather slow in movement. The figures show a Biomyxan type but no vacuoles, contractile or otherwise are present.

In another paper by the same author (1887) an organism is described from a marine aquarium under the name *Protomyxa pallida* nov. spec. Curiously enough in the explanation of the plate it is mamed *Pelomyxa pallida* and this is the name under which it is mentioned and figured in DOFLEIN (1911) p. 239. He observed it only in a rhizopodous, never in a heloizoid condition. On killing with osmic acid and staining with picrocarmine numerous small nuclei were found. Nothing is said about the presence of contractile vacuoles but the figure representing the organism in life shows certain clear areas which might be interpreted as such. The whole description of the organism is so very meagre that I should not be justified in considering my *L. reticulata* as identical with it though in the possession of several small nuclei it resembles the latter. It is improbable too that a marine form would be found in cultures made from soil.

MÖBIUS (1888) deals with a marine *Biomyxa* which had fine colourless protoplasm. No vacuoles or nuclei however were visible in the living form. One individual divided whilst he was watching it and after fifteen minutes the parts united again.

This is exactly similar to the process I have described above under Multiplication.

PENARD (1902) gives an account of three organism under the name of *Biomyxa* all occurring in fresh water. They differed a good deal among themselves just as LEIDY'S specimens did. One contained one nucleus; the second two, and the third twenty-one nuclei, small and staining clearly. In this last the contractile vacuoles were large

and numerous. The one containing two nuclei showed one large contractile vacuole in the main body of the organism and occasional small contractile vacuoles at the bases of the branching pseudopodia. He concludes his account of these three organisms by remarking that they agree physiologically but differ anatomically and appear to show that *Biomyxa vagans* represents in reality several distinct species which one day will have to be separated. I am in complete agreement with these last remarks and would add that I consider that the only way of bringing something approaching order out of the present confusion will be for someone to isolate and study by cultural methods the forms which present such differences as small or large, few or many, contractile vacuoles; large or small, one or many nuclei and other important differences visible in the living specimens.

The genera *Gymnophrys* (Cienkowski) and *Penardia* (Cash) also present some points of resemblance to *L. reticulata* but the differences are so marked that I need not discuss the possible relationship of *L. reticulata* with these two genera concerning whose structure very little is on record.

Penard (1904) gives a description with figures, of an *Amoeba dumetosa* which deserves some consideration in that it resembles *L. flabellata* in two or three respects. It is multinucleate; possessing up to twelve small nuclei, and has several contractile vacuoles. The protoplasm forms long pseudopodia which are capable of temporary anastomosis. The figures show an organism which, according to Penard's definition of the genus Amoeba (1902) p. 33, should not be classified as Amoeba at all since the pseudopodia anastomose. Putting all the characters together; many nuclei and contractile vacuoles along with the branching anastomosing pseudopodia it would be better, I think, to place this organism under the suborder Reticulosa. It seems to present more points of resemblance to the forms placed in this category than to the forms usually placed in the suborder Lobosa.

In conclusion I should like to state that the bulk of the work recorded in this paper was carried out at the Rothamsted Experimental Station Harpenden, and I take this opportunity of expressing my thanks to the Director and to the committee of the Lawes Agricultural Trust for the facilities afforded me for working at the station. To Prof. Minchin I am also grateful for suggestions concerning technique and for allowing me to work in his laboratory at the Lister Institute for a short time. Prof. Gamble,

director of this laboratory, at which the work is now being continued has made some valuable suggestions which have been adopted in the preparation of the paper and also proposed the mame *Gephyramoeba*. My best thanks are due to him also.

Literature References.

Schultze, Max (1854): Über den Organismus der Polythalamien (Foraminiferen). Leipzig p. 8.

Lieberkühn, N. (1872): Über Bewegungserscheinungen der Zellen. Schriften der Ges. z. Beförderung d. ges. Naturwiss. Bd. 9 p. 335.

Cienkowski, L. (1876): Über einige Rhizopoden und verwandte Organismen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 12 p. 15.

Leidy, J. (1879): Fresh-water Rhizopods of North America. U. S. A Geological Survey of Territories Vol. 12 p. 281.

Bütschli, O. (1880): Bronn's Klassen des Tierreichs Bd. 1.

Gruber, A. (1884): Die Protozoen des Hafens von Genua. Nova Acta Acad. Leop. Vol. 46 p. 503.

— (1887): Über einige Rhizopoden aus dem Genuser Hafen. Ber. d. naturf. Ges. Bd. 4 p. 33.

Möbius (1888): Bruchstücke einer Rhizopodenfauna der Kieler Bucht. Abh. kgl. Akad. Wiss. Berlin Bd. 8 p. 23.

Penard, E. (1902): Faune Rhizopodique du Bassin du Leman. p. 549.

— (1904): Quelques nouveaux Rhizopodes d'eau douce. Arch. f. Protistenk. Bd. 3 p. 392.

— (1905): Les Amibes et le genre Amoeba. Rev. Suisse de Zool. T. 13 p. 401.

Rhumbler, L. (1903): Systematische Zusammenstellung der recenten Reticulosa. Arch. f. Protistenk. Bd. 3 p. 181.

Cash, J. (1904): On some new and little-known British fresh-water Rhizopoda. Linn. Soc. Journ. Vol. 29 p. 218.

Dobell, C. C. (1908): The structure and Life-history of Copromonas subtilis. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 52 p. 75.

— (1913): Observations on the Life-history of Cienkowski's "Arachnula". Arch. f. Protistenk. Bd. 31 p. 317.

Hickson, S. J. (1909): The Proteomyxa. A Treatise on Zoology ed. by Sir E. Ray Lankester Pt. 1 p. 1.

Doflein, F. (1911): Lehrbuch der Protozoenkunde. 3. Aufl. Jena.

Minchin, E. A. (1912): An Introduction to the Study of Protozoa. London.

Goodey, T. (1911): A Contribution to our knowledge of the Protozoa of the Soil. Proc. Roy. Soc. B. Vol. 84 p. 165.

— (1913): The excystation of Colpoda cucullus from its resting-cysts and the nature and properties of the cyst-membranes. Proc. Roy. Soc. B Vol. 86 p. 427.

Explanation of Plates.

The drawings were made with the aid of the camera lucida and the photomicrographs were taken with Zeiss apparatus.

Plate 5.

Fig. 1. Drawing of a living *Leptomyxa reticulata* × 156 embedded in agar, the branching dendritic appearance is well shown.

Fig. 2. Drawing of living *L. reticulata* × 156 spread out in water.

Fig. 3. Drawing of a portion of living *L. reticulata* × 675. The organism was spread out on the surface of water; the largest dark granules represent nuclei.

Fig. 4. Drawing of living *L. reticulata* and cyst × 400. The single large organism emerged from the cyst containing three endocysts.

Plate 6.

Photomicrographs.

Fig. 5. *L. reticulata* × 212 Preparation stained with iron haematoxylin showing numerous nuclei with deeply stained karyosomes, minute contractile vacuoles in the cytoplasm and the anastomosing character of the protoplasm.

Fig. 6. *L. reticulata* × 670 showing ectoplasm and endoplasm; nuclei deeply stained and inclusions of bacteria (b) not so deeply stained. Iron haematoxylin.

Fig. 7. *L. reticulata* × 208 showing the ingestion of a small amoeba at the upper edge. Iron haematoxylin.

Fig. 8. A portion of the edge of fig. 7 × 1057 showing the amoeba held by the pseudopodia of the *Leptomyxa.*

Fig. 9. *L. reticulata* × 114 showing plasmotomy; the preparation was fixed just as the daughter organisms separated. Iron haematoxylin.

Fig. 10. *L. reticulata* resting-cyst × 290. Two endocyst membranes have been laid down in this case; nuclei are shown in the cytoplasm.

Plate 7.

Fig. 11. Drawing of living *L. flabellata* × 400 showing clear ectoplasm and granular endoplasm, a single nucleus with large oval karyosome and several small contractile vacuoles.

Fig. 12. Drawing of living *L. flabellata* × 400 showing a small uninucleate form just constricted from a large multinucleate organism.

Fig. 13. Drawing of empty cyst and living *L. flabellata* × 400. After excystation the organism took on the *Amoeba limax* appearance. The empty endocyst is seen lying within the ectocyst.

Fig. 14. Drawing of living *Gephyramoeba delicatula* × 400 just after excystation showing finely granular protoplasm, single nucleus, three contractile vacuoles and the empty single-walled cyst with aperture through which the organism emerged.

Fig. 15. Drawing of living *G. delicatula* × 500 showing the organism clinging to the outside of an empty cyst from which it has just emerged.

Plate 8.

Photomicrographs.

Fig. 16. Resting cyst of *L. reticulata* showing divison of contents into two portions around each of which an endocyst has been secreted. Unstained.

Fig. 17 *L. flabellata* × 672 showing the ingestion of an amoeba and two amoebae lying in vacuoles. Karyosomes of the nuclei are deeply stained; the nucleus on the right shows a nuclear membrane. Iron haematoxylin.

Fig. 18. Resting cyst of *L. flabellata* showing the well-marked prominences on the ectocyst. A mass of defecated debris is seen lying between the endocyst and the ectocyst. Unstained.

Fig. 19. *L. flabellata* × 240 showing plasmotomy. The two daughter organisms have just separated; the one on the right containing one nucleus and that on the left nine. Iron haematoxylin.

Fig. 20. *Gephyramoeba delicatula* × 1000 showing the ingestion of a small amoeba. Iron haematoxylin.

Fig. 21. *G. delicatula* × 977 showing the karyosome of the nucleus constricted in going round from one branch to the other. Iron haematoxylin. This is not a case of nuclear division.

Bau und Vermehrung von *Prowazekia josephi* n. sp.

Von
K. Bělař, Wien.

(Hierzu Tafel 9 und 8 Textfiguren.)

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
1. Material und Methoden	103
2. Beobachtungen am lebenden Objekt	105
3. Bau und Vermehrung nach dem gefärbten Präparat	106
4. Zusammenfassung und Schlußbemerkungen	113
5. Literaturverzeichnis	117
6. Tafelerklärung	118

---

1. Material und Methoden.

Als ich im Herbste 1913 Faulkulturen aus einem Altwasser der Donau anlegte, fiel mir eine Flagellatenform auf, die in der Kahmhaut üppig gedieh. Beim Studium der gefärbten Präparate erwies sich die Form, die ich zuerst für eine *Bodo*-Art gehalten, als zum Genus *Prowazekia* Hartmann und Chagas gehörig, da ein Kinetonucleus vorhanden war. Sodann wurde eine größere Zahl von Präparaten angefertigt, im wesentlichen nach der von Hartmann und Chagas 1910 angegebenen, von mir etwas modifizierten Methode: kleine Teile der oberflächlichen Kahmhaut wurden mit möglichst wenig Wasser auf reinen, fettfreien Deckgläschen mit einer Präpariernadel verrieben, die Deckgläschen sodann etwa 30 Sekunden liegen gelassen, wobei die Schicht naß bleiben mußte, und dann mit der

Schicht nach unten auf eine Fixierungsflüssigkeit fallen gelassen und 5 Minuten darin belassen. Als Fixierungsflüssigkeit wurde verwendet: Sublimatkochsalz nach Heidenhain mit 5proz. Eisessig, Sublimat in absolutem Alkohol gesättigt, und Flemming's starkes Gemisch. Die beiden ersteren bewährten sich am meisten, doch bevorzugte ich Sublimatalkohol. Aus den Sublimatgemischen kamen die Deckgläschen in eine rumfarbene Lösung von Lugol's Gemisch in 90proz. Alkohol und wurden nach 5minütigem Verweilen darin in reinen 90proz. Alkohol übertragen, woraus sie nach 5 Minuten unmittelbar in reines Wasser und von da in die Farblösung oder in Eisenalaun (2,5 proz.) gelegt wurden. Schrumpfungen traten bei diesem Verfahren, welches sich für alle freilebenden Protozoen eignet, fast gar nicht auf und die Gefahr des Wegschwimmens der Flagellaten war, trotzdem es unwahrscheinlich klingen mag, auf ein Minimum reduziert. Nach Fixierung in Flemming's Gemisch wurde gründlich ausgewaschen und in Eisenhämatoxylin gefärbt. Zum Färben nach Sublimatfixierung verwendete ich: 1. Mayer's Hämalaun mit Orange- oder Eosinnachfärbung, 2. Biondi-Ehrlich-Heidenhain's Gemisch, 3. Heidenhain's Eisenhämatoxylin, nach der Originalvorschrift, die sich am besten bewährte. Die mit letzterer Technik gewonnenen Präparate sind es hauptsächlich, die der Darstellung der feineren Vorgänge bei der Kernteilung zugrunde liegen.

Im Hinblick darauf, daß in letzter Zeit die Untersuchung der freilebenden Protomonadinen gegenüber der der parasitischen Formen zurücktrat, ist es von besonderer Wichtigkeit, mehr die ersteren zu berücksichtigen, da diese meist primitivere Verhältnisse zeigen, worauf Hartmann und Prowazek wiederholt hingewiesen. Auch ist der Umstand bei der von mir gefundenen Art besonders bemerkenswert, daß sie im Freien in solchen Mengen auftrat, daß ich es nicht nötig hatte, sie auf Agarplatten, wie bisher alle meine Vorgänger, zu kultivieren, sie also in ihrem natürlichen Medium studieren konnte. Im wesentlichen konnte ich bei meiner Untersuchung die Ergebnisse Hartmann's, Nägler's und Whitmore's bestätigen; ich bringe im folgenden eine genauere Beschreibung des lebenden Objektes und eine eingehende Schilderung der Mitose des Hauptkernes und des Blepharoplasten.

Ich will hier auch die Gelegenheit ergreifen, Herrn Prof. Dr. Joseph und Herrn Prof. Dr. Schiller, die mir bei der Ausführung der Arbeit mit Ratschlägen zur Seite standen, wie auch Herrn Kustos Dr. Rebel für die Erlaubnis, die reichhaltige Bibliothek des k. k. Naturhistorischen Hofmuseums zu benützen, sowie den Herren

Bauer und Spittler, die mir bei der Beschaffung des Materials behilflich waren, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

2. Beobachtungen am lebenden Objekt.

Prowazekia josephi trat, wie oben erwähnt, in einer Faulkultur von Tümpelwasser auf. Die Prowazekienfauna hielt sich etwa 4 Tage auf dem Höhepunkte, worauf sie rapid abnahm und die Tiere bald nur in wenigen Exemplaren zu finden waren. Alle Bemühungen, die Kultur zu erhalten, blieben fruchtlos. Vergesellschaftet war unsere Art mit den gewöhnlichen Bewohnern solcher Kulturen: Vorticellen, Cryptomonaden, Peranemaarten, *Anthophysa vegetans* und, was für die Unterscheidung günstig war, mit *Prowazekia parva* Nägler.

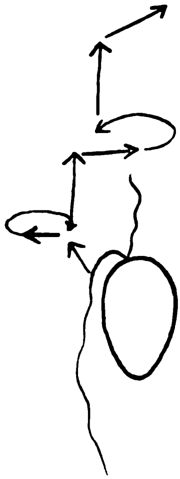
Die Länge der neuen Form beträgt etwa 6—10 μ, die Breite 4—6 μ, sie ist also größer als *Pr. parva*, etwas kleiner als *Pr. cruzi* und beträchtlich kleiner als *Pr. weinbergi*, *asiatica* und *caudata*.

Die Form ist fast stets breit birnförmig, bei sich teilenden Tieren ist sie meist annähernd kugelförmig, passiv verändert wird sie durch Aufnahme von großen Stäbchenbakterien (Fig. 4). Der Periplast ist demnach ziemlich fest und spontane Metabolie kommt nicht vor. Der Inhalt der Zelle läßt sich in zwei Zonen gliedern: in die vordere im breiten und die hintere im schmalen Teil der Zelle. Erstere ist beinahe homogen mit spärlichen Granulis, nur Kern und Blepharoplast sind sichtbar und oft ist eine Vacuole neben dem Blepharoplasten, die jedoch nicht kontraktil ist, wahrzunehmen (Fig. 1, 5 und 6). Gelegentlich sieht man Bakterien, die auf ihrem Wege in die Verdauungszone begriffen sind. Die hintere Zone ist fast immer mit Nahrungsvacuolen mehr oder weniger erfüllt. Die beiden Geißeln inserieren etwas seitlich vom Vorderende, die kürzere nach vorn, die längere nach hinten gerichtet, wobei letztere jedoch vom Körper ziemlich weit absteht, im Gegensatz zu *Prowazekia parva*. Das Plasma bekleidet meistens den Fuß der Vordergeißel mit einem seitlichen pyramidenförmigen Fortsatze, der vor der Teilung verschwindet. Die Bewegung ist eine ziemlich komplizierte, eine Kombination von Rotation und Vorwärtsschwimmen, die zeitlich voneinander ziemlich getrennt sind, so

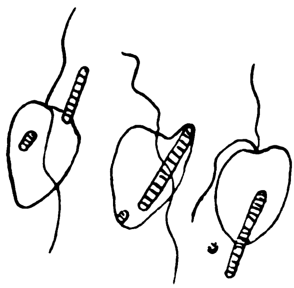


Textfig. A.
Pr. josephi. Habitusbild nach dem Leben. (2250 fach.)

daß der Eindruck eines lebhaften Wackelns hervorgerufen wird (Textfigur B). Dabei ist sie ziemlich rasch. Die Nahrungsaufnahme ist die der meisten sich holozoisch ernährenden mundlosen Protomonadinen, wie sie z. B. bei *Cercomonas longicauda* von Moroff beschrieben wurde. Die Bakterien, die die ausschließliche Nahrung unseres Flagellaten bilden, werden von einem Fortsatze des Plasmas erfaßt und in den Körper aufgenommen. Kleinere Bakterien werden sodann in einer Nahrungsvacuole eingeschlossen verdaut, die Reste am hinteren Körperpole ausgestoßen. Große Bakterien scheint *Prowazekia josephi* nicht verdauen zu können, denn sie werden scheinbar unverändert ausgestoßen (Textfig. C). Doch ist dies nicht ganz sichergestellt. Die Tiere teilten sich sehr häufig, Zeitdauer der Teilung konnte nicht festgestellt werden. Die Geißeln der Tochtertiere wirken lebhaft an deren Zertrennung mit.



Textfig. B.



Textfig. C.

Textfig. B. Einige Stadien der Bewegung von *Prowazekia josephi*.

Textfig. C a—c. Nahrungsaufnahme und Defäkation von *Prowazekia josephi*.

Cysten kamen oft zur Beobachtung; sie waren von einer etwas stärker lichtbrechenden Membran umgeben, ließen Kern und Blepharoplast nur undeutlich sehen, zeigten hingegen gelegentlich Bakterienreste und stärker lichtbrechende kuglige Körper, die vielleicht als Parasiten aufzufassen sind; sie sind offenbar identisch mit dem „Schizogoniestadium" von Hartmann und Chagas.

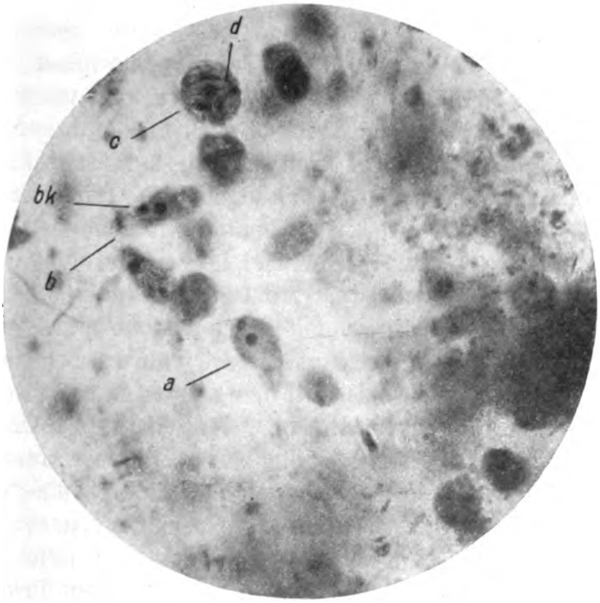
3. Bau und Vermehrung nach dem gefärbten Präparate.

A. Ruhende Form.

Das Plasma von *Prowazekia josephi* ist, wie im Leben, so auch im gefärbten Präparate im Vorderteile sehr feinkörnig mit wenigen gröberen Granulis, im Hintergrunde vacuolisiert (im Gegensatz zu *Pr. cruzi* und *parva*, deren ganzer Körper gleichmäßig vacuolisiert ist). Es färbt sich kräftig mit saueren Farbstoffen, enthält jedoch auch basophile Bestandteile. Neben dem Blepharoplasten ist auch hier eine Vacuole sehr oft zu erkennen, ein Verhalten, das an die Trypanosomen erinnert (Doflein). Die Nahrungsvacuolen sind ge-

wöhnlich mit Klumpen erfüllt, die sich mit Eisenhämatoxylin gelblich färben. Wenn der Kern die unten zu besprechenden cyclischen Veränderungen durchmacht, sind die Vacuolen spärlicher und meist ohne Inhalt. Bei der Teilung verschwinden sie oft ganz.

Der Hauptkern liegt in der Mitte des vorderen Körperteiles. Er besteht aus einer oft sehr deutlichen Kernmembran, einem peripheren Kernsaftraum und einem Caryosom. Das Caryosom ist sehr



Textfig. D. *Prowazekia josephi.* Mikrophotogramm nach Eisenhämatoxylinpräparat. (Vergr. 1900fach.) a u. b vegetative Stadien, c Individuum in Teilung, d Spindel mit Centriol, bk Basalkorn.

kompakt und oft mit der Membran durch feine Fäden (oder Scheidewände?) verbunden. Es färbt sich mit Hämalaun schwach blau, Orangenachfärbung färbt es braun; es enthält also ziemlich viel achromatische und vielleicht auch Nucleolarsubstanz, wie auch aus den Veränderungen vor der Teilung erhellt. Biondi's Gemisch färbt es blaugrün. Eisenhämatoxylin schwärzt es stark, bei weitgehender Differenzierung kann man ein Centriol, oft in Doppelzahl, darin wahrnehmen (Fig. 1).

Individuen, deren Kern in cyclischer Veränderung begriffen war, konnte man öfters beobachten. Das Caryosom wird zunächst etwas gelockert, man konnte eine Art Gerüst darin wahrnehmen (Fig. 5), dann wandert der Kern nach abwärts (Fig. 6), das Caryosom

verliert rasch seine Schwärzbarkeit, zeigt eine große Vacuole im Innern und stößt eine ziemliche Menge acidophiler Substanz aus (Fig. 7), wobei es gegen die Kernwand gedrängt, kompakt und schwärzbar wird (Fig. 9). Sodann wandert der Kern wieder hinauf und gewinnt rasch sein früheres Aussehen. Die achromatische Masse löst sich auf. Eine solche cyclische Veränderung geht auch der Kernteilung voraus. Der Kern gehört somit zur ersten primitiven Gruppe der Caryosomkerne ohne Außenkern, wie der von *Spongomonas* u. a.

Seitlich vom Vorderende liegt der Blepharoplast mit seiner Achse parallel zur Zelloberfläche. Seine Gestalt ist meist oval, doch nimmt er gelegentlich auch Kugel- oder Birnform an. Seine Färbbarkeit ist wegen seines viel dichteren Gefüges weit kräftiger als die des Hauptkernes. Mit Hämalaun färbt er sich tiefblau, mit Biondi's Gemisch grün, mit Eisenhämatoxylin behandelt, behält er bei der Differenzierung die Farbe viel länger als das Caryosom des Hauptkernes. Bei starker Differenzierung ist in ihm kein Centriol nachzuweisen. Eine äußerst schmale Kernsaftzone ist beim ruhenden Geißelkern vorhanden, sie wird gelegentlich durch Schrumpfung erweitert. Der Kinetonucleus ist mit dem Caryosom des Trophonucleus durch eine feine Desmose verbunden, genau wie bei *Prowazekia cruzi*.

An dem oberen Ende des Blepharoplasten befindet sich ein Basalkorn; oft den ersteren berührend, meist durch eine sehr kurze Centrodesmose mit ihm verbunden. Es ist meist von ovaler Gestalt und konnte nie in zwei Körner aufgelöst werden (wie Hartmann, Nägler und Whitmore angeben), außer bei der Prophase der Teilung. Von ihm gehen die zwei Geißeln aus. Von theoretischer Wichtigkeit ist es, daß das Basalkorn nicht an der Zelloberfläche, sondern ziemlich tief im Zelleib liegt, also unmöglich als Differenzierungsprodukt des Periplasten aufgefaßt werden kann (M. Heidenhain, H. N. Maier u. a.).

B. Teilung.

Die Teilung der beiden Kerne wurde besonders in ihren Anfangsstadien von den früheren Untersuchern nicht sehr genau geschildert. Ich will hier eine Ergänzung und teilweise Modifikation der früheren Schilderungen bringen.

Der gewöhnliche Teilungsmodus ist Mitose; Mitose sowohl des Haupt- als auch Geißelkerns. Sie kann eine Simultan- oder Succedanteilung sein. Die Anzahl der gefundenen Simultanteilungstadien verhält sich zu der der Succedanteilungsstadien wie 1 : 1. Bei den

Succedanteilungen teilt sich der Geißelkern vor dem Hauptkern in 80 Proz. aller Fälle.

Die Form der Tiere bei der Teilung ist wechselnd; gelegentlich birnförmig, meist aber mehr oder weniger kugelförmig.

Das Plasma ist meist vacuolenarm oder -frei.

Ich beginne mit der Teilung des Hauptkernes. Dieser rückt hinunter, macht eine cyclische Veränderung durch und wandert hinauf, rekonstruiert sich jedoch nicht; sondern das Caryosom bleibt einseitig liegen, wobei es Eiform annimmt; den Hohlraum des Kernes erfüllt eine körnige achromatische Masse. Jetzt tritt aus dem Caryosom das Centriol aus; meist in Diplosomform (Fig. 10), einmal jedoch wurde auch ein Stadium, wie es Fig. 9 zeigt, beobachtet. Dieses Diplosom durchdringt die achromatische Masse und gelangt zur Kernmembran, an die es sich innen anlagert (Fig. 11). Dort teilt es sich und die beiden Teilstücke wandern rasch längs der Kernmembran auseinander, bis sie sich diametral gegenüberliegen (Fig. 12). Sodann bildet sich zwischen ihnen eine zunächst bauchige Spindel aus (Fig. 13), die sich immer mehr streckt. Das Caryosom dehnt sich und zerfällt in zwei Hälften, die nach Hartmann plurivalenten Chromosomen oder einem gonomeren Zustand (das erstere ist wahrscheinlicher) entsprechen und sich im Äquator der Spindel anordnen (Fig. 14—17). Die Spindelfasern zeigen deutlich ihre Zusammensetzung aus Körnern (Linochondren), die durch Fäden (Linodesmen) verbunden sind (also entsprechend der Protoplasmatheorie K. C. Schneider's) (Fig. 25).

Die Anaphase findet nun sehr rasch statt. Jeder der beiden Chromatinbrocken dehnt sich und schnürt sich hantelförmig ein; zugleich verkürzt sich scheinbar die Spindel, Fasern und Centriolen werden unsichtbar und man sieht bloß am Pol der „Tochterplatten" eine kugelförmige achromatische Masse, die in die Vertiefung ersterer etwas eingesenkt ist (Fig. 18). Dann geht die Teilung wieder langsamer von statten, wie aus der größeren Zahl der Stadien, die beobachtet wurden, zu schließen ist. Die Verbindung der Chromatinklumpen (Chromosomen) zieht sich zu einem dünnen Strang aus, der nach und nach seine Färbbarkeit verliert (Fig. 20, 21). Sodann verschmilzt jedes Tochtercaryosom sehr rasch mit der „lokomotorischen Masse" (Hartmann) (Fig. 22), womit die Teilung des Hauptkernes beendet ist. Alle diese Vorgänge finden innerhalb der intakten Kernmembran statt.

Somit entspricht die Teilung des Hauptkernes der der übrigen *Prowazekia*-Formen, wie sie von Hartmann und Whitmore ge-

schildert wurde. Auch ähnelt sich nach der Beschreibung Hartmann's und Chagas' der Teilung von *Spongomonas*, *Cyathomonas* u. a. Der Kern ist demnach ein echter Caryosomkern im Sinne Hartmann's, da der Binnenkörper sowohl den generativen als auch den lokomotorischen Anteil der Teilungsfigur liefert; nicht wie Whitmore behauptet, ein Pseudocaryosomkern, dessen Caryosom ja der generative oder idiochromatische Anteil fehlen müßte.

Die Teilung des Blepharoplasten erfolgt entweder gleichzeitig mit dem Hauptkern oder früher oder später. In allen Fällen verläuft sie in gleicher Weise. Hartmann und die anderen Untersucher dieser Verhältnisse nahmen nach Analogie der Trypanosomen (Rosenbusch) ein Centriol in seinem Innern an und bilden auch Äquatorialplattenstadien ab. Derlei Stadien konnte ich nie beobachten, auch ließ sich, wie schon oben erwähnt, ein Centriol niemals nachweisen. Wie wir sehen werden, kommt das kinetische Zentrum (Schneider) anderswo her. Die Mitose aber ähnelt etwa der des Micronucleus von Paramaecium ohne scharf ausgeprägte Äquatorialplatte.

Eingeleitet wird die Teilung des Geißelkernes durch Teilung des Basalkornes der Geißeln, dessen Teilstücke kurze Zeit durch Centrodesmose in Verbindung stehen (Fig. 10). Bald nach dessen Teilung bildet sich von jedem Basalkorn aus eine zweite Geißel; man findet oft Stadien, wo das eine Basalkorn bereits zwei, das andere erst eine Geißel trägt (Fig. 15 u. 16). So oft ich zwei getrennte Basalkörner sah, waren auch drei oder vier Geißeln zu sehen, im Gegensatz zu *Prowazekia cruzi* und *parva*, bei denen sie entweder ganz abgestoßen werden, oder die Neubildung der zweiten Geißel später erfolgt. Die Neubildung der zweiten Geißel kann scheinbar auch später erfolgen; jedoch können zweigeißelige Stadien durch Abbrechen einer Geißel leicht vorgetäuscht werden.

Das eine Basalkorn bleibt an seinem Platze, das andere wandert an dem Blepharoplasten vorbei (Fig. 22) und stellt sich am entgegengesetzten Pole auf. Der Blepharoplast, in dessen Innern man feinere Vorgänge nicht verfolgen kann, wird spindelförmig und streckt sich in die Länge, wobei in einigen Fällen eine Längsfaserung wahrgenommen werden konnte (Fig. 23). Sodann verjüngt er sich in der Mitte etwas, wobei eine schmale Kernsaftzone sichtbar wird (Fig. 25). Die Trennung erfolgt sehr rasch. Jetzt senkt sich das Centriol (= Basalkorn) etwas in den verbreiterten und muldenförmig vertieften Tochterblepharoplasten ein (Fig. 26), in einem Falle wurde auch eine Andeutung einer Polspindel gesehen (Fig. 19). Zwischen den Tochterblepharoplasten dehnt sich eine

achromatische Spindelfaserung aus (Fig. 26 u. 27) die auch von ROSENBUSCH bei Trypanosomen geschildert wurde; sie wird bald zu einem dünnen Faden, der später verschwindet. Das Basalkorn wandert aus der Mulde heraus und stellt sich an die Spitze des Blepharoplasten, der jetzt ein unregelmäßig zackiges Aussehen erhält (Fig. 21) und dann in die normale Form zurückkehrt. Die Verbindung zwischen dem Caryosom des Kernes und dem Kinetonucleus wird nach vollendeter Teilung des letzteren wieder aufgenommen und zwar durch Auswachsen eines feinen Fadens vom Blepharoplasten zum Kerne (Fig. 21 u. 26). Ich will hier bemerken, daß die frühzeitige Neubildung der zweiten Geißel von PROWAZEK in seinen Flagellatenstudien bei „*Bodo spec.*" geschildert wurde.

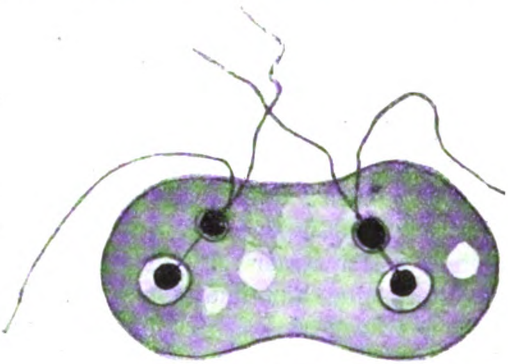
Der Geißelkern ist also nach diesen Befunden kein echter Caryosomkern und WHITMORE's Schilderung eines Centriolaustrittes dürfte unrichtig sein; ich habe auch ein solches Stadium gesehen, doch wird ein solches Verhalten durch Kontraktion der Verbindungsbrücke zwischen Haupt- und Geißelkern vorgetäuscht (Fig. 8).

Außer der Mitose kommt noch eine zweite Art der Kernteilung vor, nämlich Amitose oder richtiger Promitose (NÄGLER) des Hauptkerns und des Blepharoplasten. Sie ist bereits bei allen Prowazekien bekannt und ich kann mich der Schilderung von HARTMANN und CHAGAS anschließen. Etwa 20 Proz. aller sich teilenden Individuen teilen sich promitotisch. Auffallend ist, daß sich nur Individuen unter 8 μ größtem Durchmesser promitotisch teilen, ferner, daß die Teilung fast stets eine Simultanteilung ist. Der Verlauf ist ziemlich einfach: das Caryosom des Hauptkernes und des Blepharoplasten streckt sich in die Länge und wird eingeschnürt, worauf das Zwischenstück zu einem dünnen Faden ausgezogen wird. Chromosomen des Außenkernes, wie sie VAHLKAMPF und NÄGLER bei *Amoeba limax* geschildert, HARTMANN und CHAGAS bei *Prowazekia cruzi* angedeutet haben, wurden nicht gefunden. Die Tochterkerne trennen sich und werden rekonstruiert. Die Geißeln können scheinbar auch abgeworfen und die Basalkörner in den Blepharoplasten eingeschmolzen werden; doch findet man ebensooft Teilungsstadien mit wohlausgebildeten Basalkörnern und Geißeln. Die Centrodesmose zwischen Haupt- und Geißelkern wird auch hier bald neu gebildet. Betreffs der Beschaffenheit des Plasmas gilt das oben bei der Mitose gesagte.

Über die Bedeutung dieses Teilungsmodus kann man verschiedener Ansicht sein: die unwahrscheinlichste ist die, daß es sich hierbei um eine andere Rasse handelt; manche halten es für eine

durch Nahrungsmangel bedingte Abkürzung der Teilung; eine Annahme, die durch die Kleinheit der Individuen gestützt wird, jedoch deswegen unwahrscheinlich ist, weil die in Vorbereitung zur Teilung sich befindlichen Individuen oft reichlich mit Nahrungsvacuolen gefüllt sind. Möglicherweise handelt es sich hierbei um eine Art Depression, um eine Vorbereitung für noch unbekannte, sexuelle Vorgänge; ein Fall, der mancherlei Analogien aufzuweisen hätte: so erfolgt z. B. bei *Amoeba mira* die Kernteilung vor der Encystierung in einer von der vegetativen Teilung abweichenden Weise (Gläser). Eine ähnliche Verschiedenheit der Teilungsarten findet sich bei *Cercomonas longicauda*, wo nach Wenyon die Mitose eine Reduktionsteilung ist.

Zellteilung. Nach vollendeter Kernteilung erfolgt die Längsteilung der Zelle. Bei Individuen, die ihre frühere Form bewahrt haben, kann man dies deutlich fest-



Textfig. E.



Textfig. F.

Textfig. E. *Prowazekia josephi.* Beginn der Zellteilung (ca. 4500 fach).
Textfig. F. *Prowazekia josephi.* Längsteilung (ca. 4500 fach).

stellen (Textfig. F). Meist sind die Tiere abgekugelt und es scheint Querteilung vorzuliegen. Eine Betrachtung der Längsachse, die durch die Verbindung Hauptkern — Blepharoplast gegeben ist, zeigt, daß das allgemeine Gesetz der Längsteilung bei Flagellaten auch hier gilt.

Cysten. Die Betrachtung gefärbter Cysten zeigt nicht viel mehr, als die lebender; Kern und Blepharoplast sind erhalten, dagegen sind Basalkörner und Geißeln verschwunden. Die stark lichtbrechenden Körper, von denen oben die Rede war, präsentieren sich als Vacuolen, die mit Körnern, die etwa so groß wie Basalkörner sind und sich mit Eisenhämatoxylin lebhaft schwärzen, er-

füllt sind. Sie kommen auch bei freibeweglichen Tieren, allerdings nur selten, vor und sind dann von geringerer Färbbarkeit.

4. Zusammenfassung und Schlußbemerkungen.

Das Ergebnis unserer Untersuchungen läßt sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Größe: 6—10 μ lang, 4—6 μ breit. Form meist breit birnförmig; Geißeln am breiten Pole entspringend.

2. Das Plasma ist in eine homogene und eine vacuolisierte Zone getrennt.

3. Der Hauptkern ist ein echter Caryosomkern ohne Außenkern; das Caryosom enthält ein Diplosom; die Teilung ist entweder eine regelrechte Caryokinese, wobei die Bestandteile der Teilungsfigur ausschließlich vom Caryosom geliefert werden und die Membran des Kernes erhalten bleibt, oder eine primitive Promitose.

4. Der Blepharoplast ist ein Kern mit dichtem Binnenkörper, mit sehr schmaler Kernsaftzone. Die Teilung ist eine intranucleäre Mitose ohne scharf hervortretende Äquatorialplatte, die kinetischen Zentren jedoch kommen von außen. Die Promitose gleicht der des Hauptkernes.

5. Die Geißeln entspringen von einem ovalen Basalkorn, welches möglicherweise aus zwei getrennten Basalkörnern entstanden zu denken ist. Bei der Teilung des Blepharoplasten teilt sich das Basalkorn und seine Teilstücke treten als Centriolen an die Pole der Spindel. Die Geißeln bleiben während der Teilung erhalten und vermehren sich während der Vorbereitung zur Teilung.

6. Diejenigen Individuen, die sich promitotisch teilen, sind stets kleiner als die anderen.

7. Die Cysten enthalten Kern und Blepharoplast, jedoch keine Geißeln. Daneben sind stark färbbare kugelförmige Körper ungewisser Natur vorhanden.

Durch diese Merkmale ist bereits eine Diagnose von *Prowazekia josephi* gegeben. Bevor wir sie zusammenfassen, wollen wir einen kurzen Überblick über die Geschichte der Gattung *Prowazekia* geben. Im Jahre 1910 beschrieben Hartmann und Chagas einen Bodoniden aus menschlichen Fäces, für den sie wegen des Vorhandenseins eines Blepharoplasten die Gattung *Prowazekia* aufstellten (*Pr. cruzi*). Im nächsten Jahre wurden zwei weitere Arten entdeckt: *Prowazekia parva* Nägler und *Prowazekia weinbergi* Mathis und Léger; die erstere aus Süßwasser, die letztere aus menschlichen Fäces gezüchtet.

1911 erkannte Whitmore den von Castellani und Chalmers entdeckten *Bodo asiaticus* als eine *Prowazekia*. Nach seinen Angaben ist auch der von Alexeieff im selben Jahre genauer beschriebene *Bodo caudatus* eine *Prowazekia*. Nach dem Vorausgegangenen ist es nicht unwahrscheinlich, daß sich nach und nach noch mehrere Bodoniden als Prowazekien herausstellen werden (siehe die Beschreibung Prowazek's von *Bodo lacertae*), wie denn auch Alexeieff bereits in radikaler Weise das Genus *Prowazekia* mit dem Genus *Bodo* identifiziert. Im folgenden lasse ich die Artdiagnosen der bereits bekannten *Prowazekia*-Arten folgen.

1. *Prowazekia cruzi* Hartmann und Chagas 1910:

Form oval bis birnförmig, Länge 8—12 μ, Breite 5—6 μ; nicht metabolisch. Geißeln am schmalen Ende entspringend, Plasma gleichmäßig vacuolisiert, Geißeln in der Cyste sichtbar. Neubildung der Geißeln spät erfolgend.

2. *Prowazekia parva* Nägler 1910:

Form langgestreckt. Länge 5—8 μ, Breite?; metabolisch; Plasma vacuolisiert, Geißeln in der Cyste nicht sichtbar. Geißelbildung wie bei *Pr. cruzi*.

3. *Prowazekia weinbergi* Mathis & Léger 1910 (deren Arbeit mir leider unzugänglich war; ich zitiere nach Doflein):

Form lang birnförmig, Länge 8—15 μ, Breite 4—6,5 μ; Geißeln am breiten Ende entspringend.

4. *Prowazekia asiatica* Castellani u. Chalmers; (Whitmore 1911):

Länge 10—16 μ, Breite 5—8 μ; metabolisch. Rhizoplast frei im Plasma endigend; Geißeln in der Cyste sichtbar. Geißelbildung wie bei den Vorhergehenden.

5. *Prowazekia* (*Bodo*) *caudata* Ehrenberg (Alexeieff 1911) (zitiert nach Blochmann):

Länge 16—20 μ, Form birnförmig, sonstige Daten mir unbekannt.

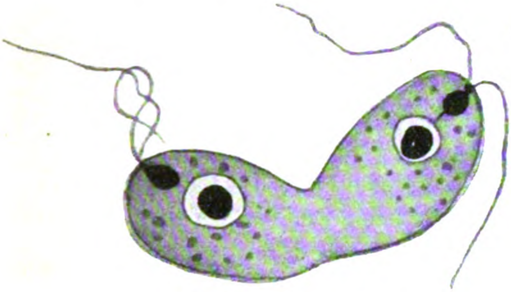
Aus obiger Zusammenstellung ersieht man, daß unsere Art sich von jeder dieser Arten wesentlich unterscheidet. Ich schlage daher vor, sie nach meinem Lehrer Herrn Prof. Dr. H. Joseph *Prowazekia josephi* zu benennen. Die Art hat folgende Diagnose:

Form meist breit birnförmig; Länge 6—10 μ, Breite 4—6 μ; nicht metabolisch; Plasma nur im hinteren Ende des Körpers vacuolisiert. Geißeln stets am breiten Körperende entspringend, bei der Teilung frühzeitig sich neubildend und in der Cyste nicht sichtbar.

Im großen und ganzen bestätigen meine Befunde die Angaben Hartmann's und der übrigen Untersucher. Ich weiche nur in der

Darstellung der mitotischen Teilung des Blepharoplasten von sämtlichen Untersuchern der bisher bekannten Prowazekien ab.

Hartmann bildet nur ein Teilungsstadium des Blepharoplasten ab: eine Spindel mit Äquatorialplatte. Er glaubt, daß die Centriolen der Spindel aus dem Binnenkörper des Kinetonucleus stammen, unabhängig von den Basalkörnern, die vor oder während der Teilung verschwinden sollen. Ähnlich Nägler. Whitmore beschreibt die Teilung des Blepharoplasten als Promitose und läßt das zweite Basalkorn nach vollendeter Teilung des Blepharoplasten aus demselben hervorsprossen, während das alte erhalten bleibt. Nach



Textfig. G.



Textfig. H.

Textfig. G. *Prowazekia josephi.* Ende der Zellteilung (ca. 4500fach).
Textfig. H. *Prowazekia josephi.* Cyste (ca. 4500fach).

meiner Darstellung ist der Blepharoplast ein Kern mit dichtem Binnenkörper und kein Caryosomkern; sein kinetisches Zentrum ist ausgewandet und zum Geißelbildner geworden. Ähnliche Befunde sind schon öfters gemacht worden und es wird sich dieser Teilungsmodus sicher noch bei manchen anderen Flagellaten nachweisen lassen. Von solchen Befunden, die meine Darstellung unterstützen, seien erwähnt:

So beschreiben Hartmann und Chagas bei *Spongomonas* eine Kernspindel, deren Centriolen Geißeln tragen; jedoch ist der Kern von *Spongomonas* ein echter Caryosomkern und es ist dies vielleicht als Übergang zu dem Verhalten bei *Prowazekia* aufzufassen. Nach Jahn bilden sich die Geißeln der Myxomycetenschwärmer vom Centriol der Teilungsspindel aus. Bei *Copromonas major* entstehen die Geißeln, die vor der Teilung abgestoßen werden, von den Centriolen der Spindel aus (Berliner), die Centriolen werden zu den Basalkörnern der neuen Geißeln. Bei *Copromonas subtilis* pflanzt sich das Basalkorn von einer Generation zur anderen durch Teilung kontinuierlich fort. Vielleicht läßt sich die Beschreibung von Rosenbusch in diesem Sinne deuten: „Die alte Geißel steht . . . . oft mit

dem vorderen Centrosom in Verbindung“, eine Ansicht, die auch von Wenyon ausgesprochen wurde. Das Basalkorn der neuen Geißel läßt Rosenbusch aus dem Tochterblepharoplasten durch heteropole Teilung hervorsprossen. Bei *Trichomastix* und *Trichomonas batrachorum* geht nach Dobell der Impuls zur Teilung vom Basalkorn (Dobell's Blepharoplast) aus, welches als Centriol der Spindel fungiert; wobei die Geißeln während der Teilung erhalten bleiben; ein Teilungsvorgang, der dem des Blepharoplasten unserer Form bereits ziemlich ähnelt.

Eine fast vollkommen mit meiner Darstellung übereinstimmende Schilderung der Centriolnatur des Basalkornes bei Flagellaten gibt Wenyon. Er schreibt: „The two daughter karyosomes (des Blepharoplasten von *Herpetomonas m. d.*) . . . . separate seemingly under the influence of the basal granule, which appears to lead the way.“ Ferner schildert er die Teilung des Kernes von *Cercomonas longicauda* in derselben Weise: das Basalkorn, welches zwei Geißeln trägt, teilt sich, zwei neue Geißeln werden gebildet und die Basalkörner treten an die Spindelpole. In den Schlußbemerkungen schreibt er: „There is no necessity to assume, that any other centrosome exists than the basal granule (nämlich nicht nur bei *Cercomonas* und *Herpetomonas*, sondern auch bei Trypanosomen).“ So steht also dieser Teilungsmodus keineswegs vereinzelt da und steht auch in keinem Gegensatz zur Caryosomlehre Hartmann's: man braucht sich ja bloß das Basalkorn in den Kern verlegt zu denken, um einen echten Caryosomkern zu erhalten. Und in der Tat finden sich, wie die oben angeführten Fälle zeigen, Übergänge von Caryosomkernen zu solchen Kernen, bei denen das Centriol aus dem Caryosom in das Zellplasma gerückt ist.

Auch bei Metazoen sind ähnliche Verhältnisse oft beobachtet worden, von Henneguy, von Schneider u. a. bei sog. Zentralgeißelzellen, ferner von Minchin und Robertson bei den Kragenzellen der Spongien, ein Fall, der wegen seiner Analogie mit den Choanoflagellaten besondere Aufmerksamkeit verdient. In allen diesen Fällen tritt das Basalkorn der Geißel nach seiner Teilung an den Spindelpol und fungiert als Centriol. Es soll damit jedoch nicht gesagt sein, daß nicht bei vielen Geißelzellen die Basalkörner ihre Centriolnatur definitiv verloren haben und nur als Geißelbildner fungieren. Alle diese Beobachtungen sind ebensoviele Stützpunkte für die Berechtigung der Henneguy-Lenhossék'schen Theorie im Protozoenreiche, zu denen in vorliegender Arbeit, wie der Autor hofft, ein neuer hinzugefügt worden ist.

Literaturverzeichnis.

*ALEXEIEFF, A.: Formes de passage entre le genre Bodo EHRENBERG et le genre Trypanoplasma LAV. et MESN. C. R. de la Soc. de Biol. Paris T. 67 p. 649.

*—: Sur la morphologie et division de Bodo caudatus. Ibid. T. 70 p. 130.

—: Sur quelques noms de genres des Flagellés etc. Zool. Anz. Bd. 39 p. 674.

BERLINER, E.: Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 p. 298.

DOBELL, C. C.: Researches on the intestinal Protozoa of frogs and toads. Quart. Journ. of Micr. Sci. Vol. 53 p. 201.

DOFLEIN, F.: Lehrbuch der Protozoenkunde. 1911.

HARTMANN, M. u. CHAGAS, C.: Flagellatenstudien. Mem. do Inst. Oswaldo Cruz Vol. 2 p. 64.

HARTMANN, M. u. PROWAZEK, S. v.: Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. Arch. f. Protistenk. Bd. 10 p. 306.

HENNEGUY: Sur les rapports des cils vibratiles avec les centrosomes. Arch. d'Anat. micr. T. 1 p. 482.

JOLLOS, V.: Bau und Vermehrung von Trypanoplasma helicis. Arch. f. Protistenk. Bd. 21 p. 103.

JOSEPH, H.: Beiträge zur Flimmerzellen- und Centrosomenfrage. Arb. Zool. Inst. Wien Bd. 13.

*MATHIS et LÉGER: Sur un flagellé Prowazekia weinbergi n. sp., fréquemment observé dans les selles de l'homme. Bull. Soc. med. chir. de l'Indochine Octobre 1910.

MOROFF, TH.: Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 3 p. 69.

MINCHIN, E. and M. ROBERTSON: Division of the Collarcells of Clathrina coriacea. Quart. Journ. of Micr. Sci. Vol. 55.

NÄGLER, K.: Prowazekia parva, eine weitere freilebende Binucleate. Arch f. Protistenk. Bd. 21 p. 111.

—: Studien über Protozoen usw. Amoeba hartmanni usw. Ibid. Vol. 22 p. 56.

PROWAZEK, S. v.: Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Vol. 2 p. 195.

— Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 21 p. 1.

ROBERTSON, M.: Division of Collarcells of Calcarea Heterocoela. Quart. Journ. of Micr. Sci. Vol. 57 p. 129.

ROSENBUSCH, F.: Trypanosomenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 p. 263.

SCHNEIDER, K. C.: Lehrbuch der vergleichenden Histologie.

VAHLKAMPF: Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von Amoeba limax usw. Arch. f. Protistenk. Bd. 2 p. 167.

WENYON, C. M.: Observations on Herpetomonas muscae domesticae and some allied flagellates. Arch. f. Protistenk. Bd. 31 p. 1.

WHITMORE: Über Prowazekia asiatica. Arch. f. Protistenk. Bd. 22 p. 370.

Die Literatur, die mit einem * bezeichnet ist, war dem Autor nicht zugänglich.

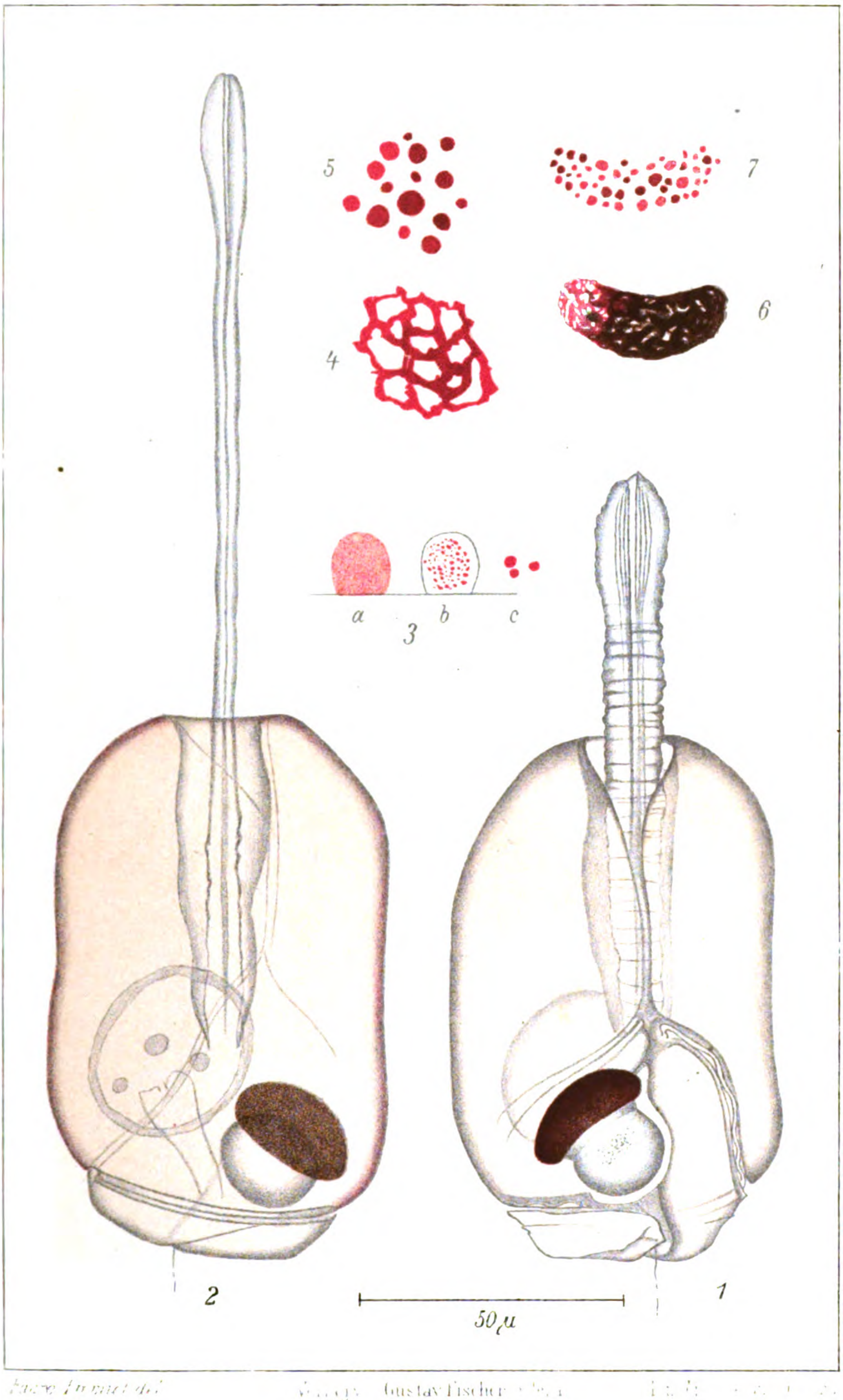
Tafelerklärung.

Tafel 9.

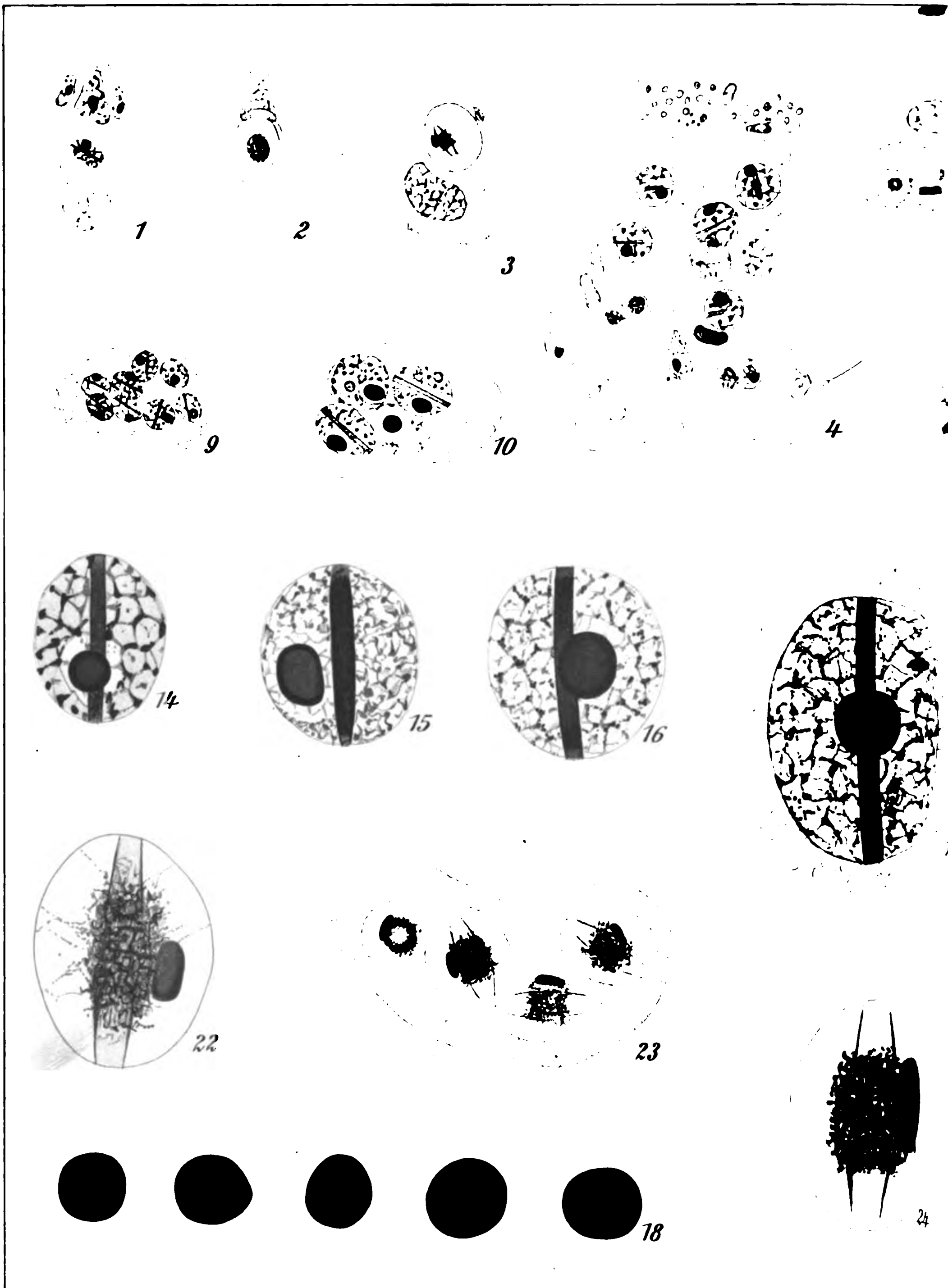
Sämtliche Figuren sind mit dem Abbe'schen Zeichenapparat, Reichert Oc. 18 und Zeiss' Ölimmers. nach Eisenhämatoxylinpräparaten entworfen. Die Vergrößerung ist ca. 4500 fach.

Fig. 1—4. Vegetative Stadien.
Fig. 1. Centriol im Caryosom sichtbar.
Fig. 2. Defäkation.
Fig. 4. Deformation durch Bakterien.
Fig. 5—8. Cyclische Veränderungen des Kernes.
Fig. 5. Auftreten des Gerüstes im Caryosom.
Fig. 6. Abwärtsrücken des Kernes.
Fig. 7. Vacuolenbildung im Caryosom und Ausstoßen der achromatischen Substanz.
Fig. 8. Regeneration.
Fig. 9—21. Caryokinese des Hauptkernes.
Fig. 9. Austritt des Centriols, Centrodesmose der Basalkörner.
Fig. 10. Austritt des Diplosoms, Ausstoßen der achromatischen Substanz.
Fig. 11. Anlagerung des Diplosoms an die Kernwand.
Fig. 12—14. Spindelbildung.
Fig. 15. Neubildung der Geißeln noch nicht vollendet.
Fig. 16. Kernspindel.
Fig. 17. Tier ohne Geißeln. Äquatorialplatte.
Fig. 18. Anaphase. Auftreten der „lokomotorischen Masse".
Fig. 19. Anaphase. Polspindel des Blepharoplasten.
Fig. 20. Beginn der Telophase.
Fig. 21. Telophase. Bildung der Desmose zwischen Haupt- und Geißelkern
Fig. 22—27. Teilung des Blepharoplasten.
Fig. 22. Vorbeiwandern des einen Basalkornes. Chromosomen des Kernes sichtbar.
Fig. 23. Blepharoplastspindel. Faserung!
Fig. 24. Desgl.
Fig. 25. Anaphase. Sichtbare Kernsaftzone. Struktur der Kernspindelfasern.
Fig. 26. Telophase. Achromatische Faserung und Desmose.
Fig. 27. Telophase.
Fig. 28—31. Promitose von Hauptkern und Blepharoplast.

Fig. 9, 10, 11, 19, 20, 21, 24, 25, 26, 28 u. 30 sind Simultan-, die übrigen Succedanteilungsstadien.

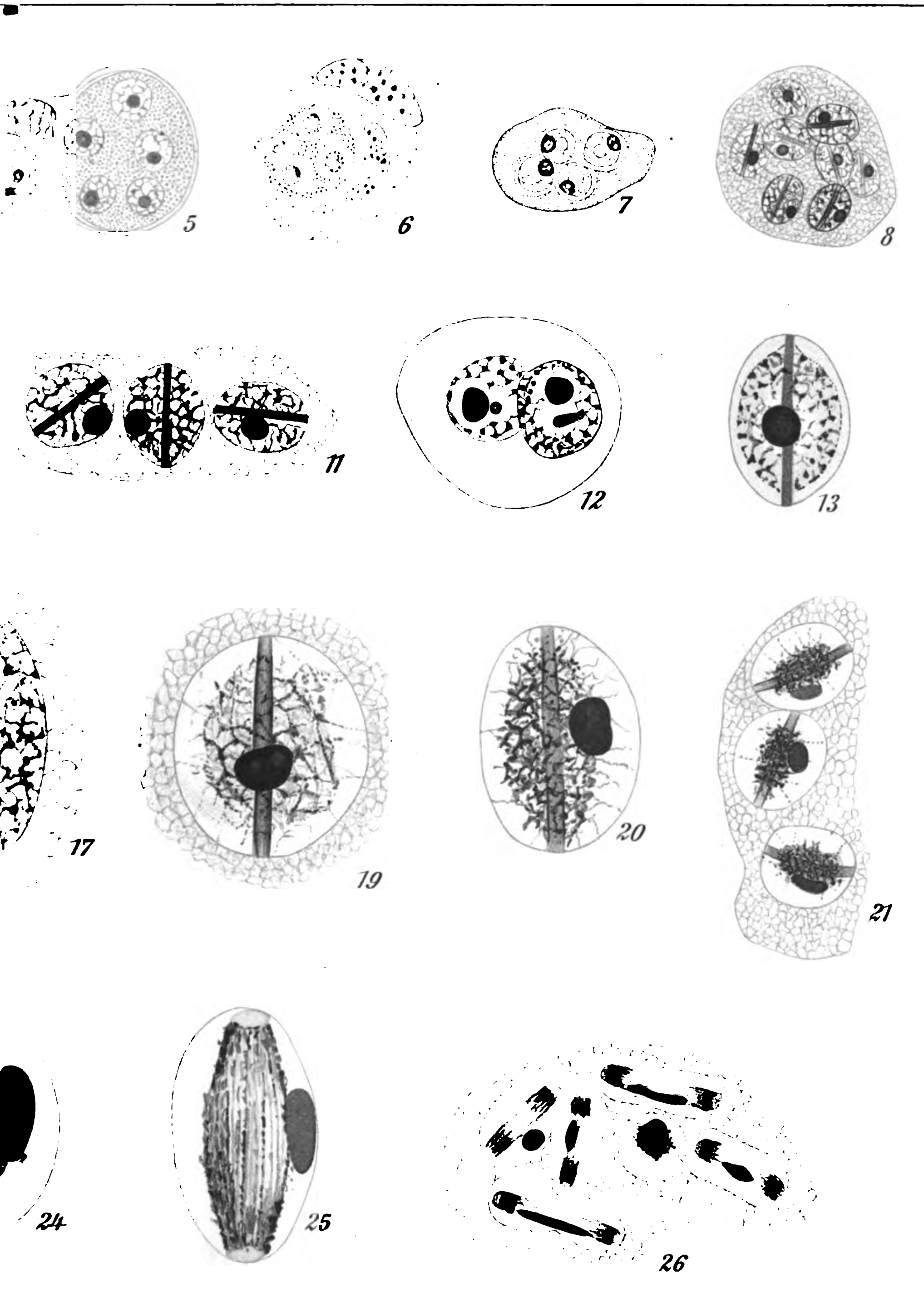


Verlag v. Gustav Fischer in Jena



L. Granata dis.

Verlag von Gusta[...]

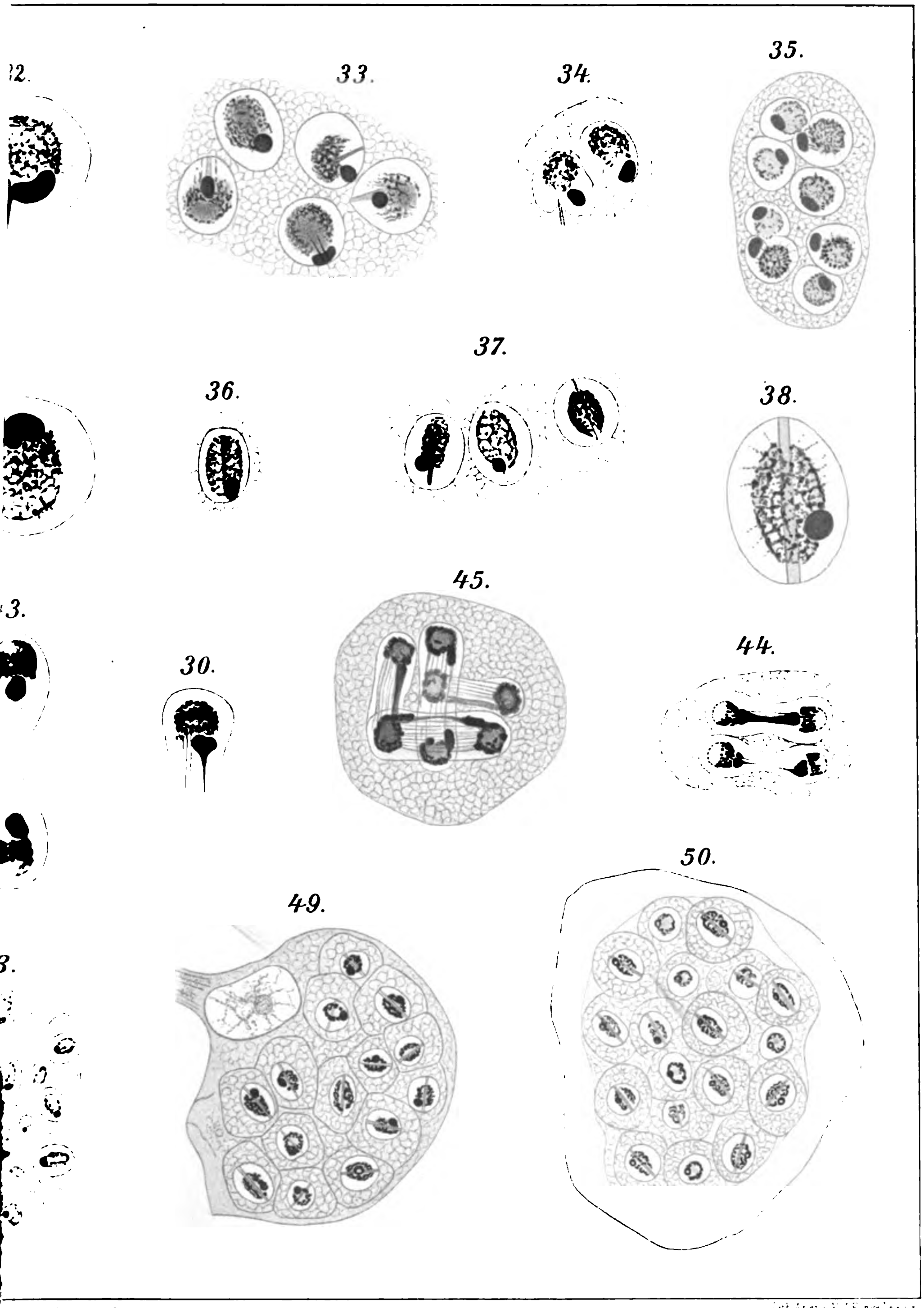


Fischer in Jena

Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig

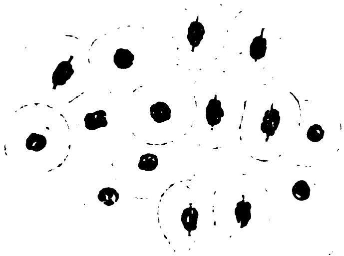


Verlag von Gusta… Fis…

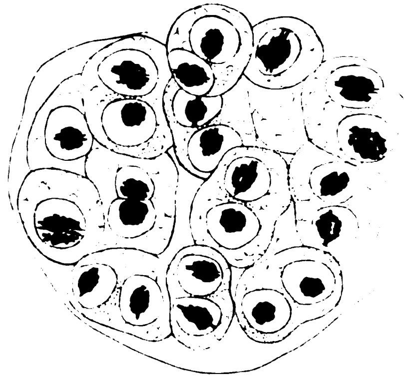


…Fischer in Jena.

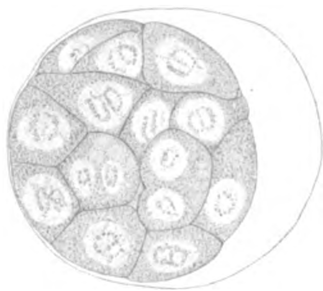
51.



52.



55.



56.



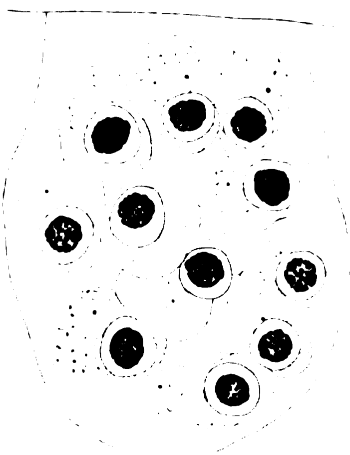
57.



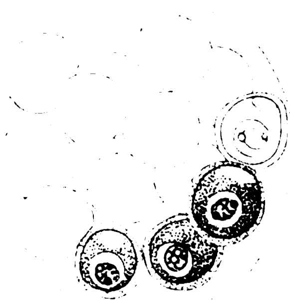
60.



63.

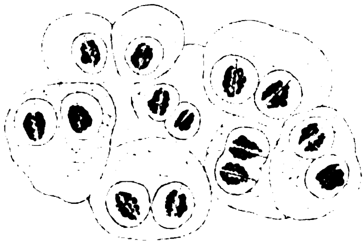


64.

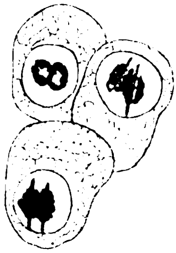


Verlag von Gustav Fischer

53.



54.



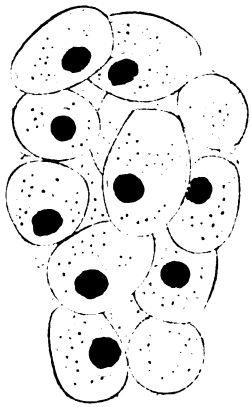
58.



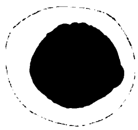
59.



66.



61.



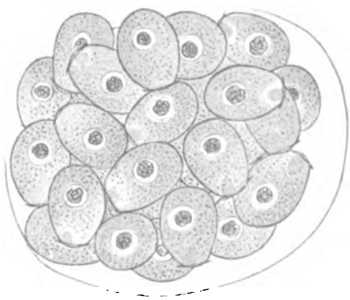
62.



65.



67.



…w Fischer in Jena.

Lith Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.



Verlag von Gustav Fischer in Jena

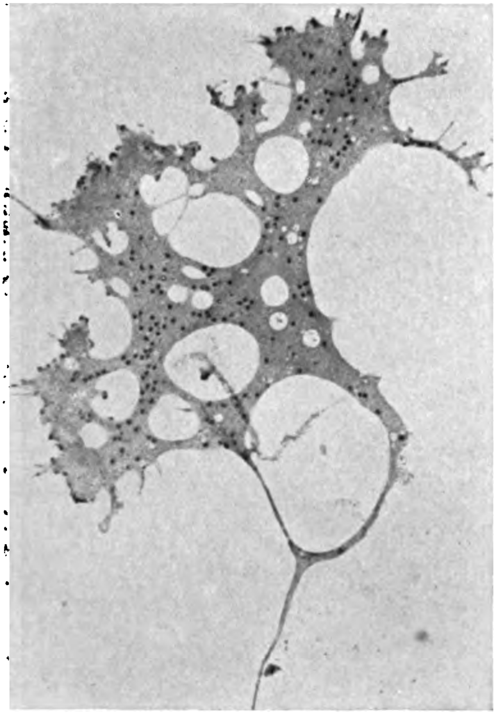


Fig. 5.

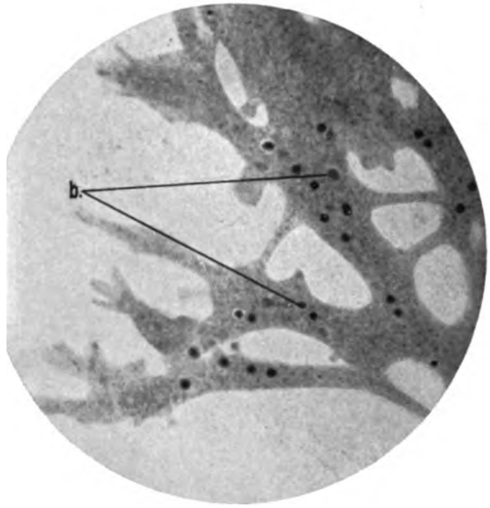


Fig. 6.

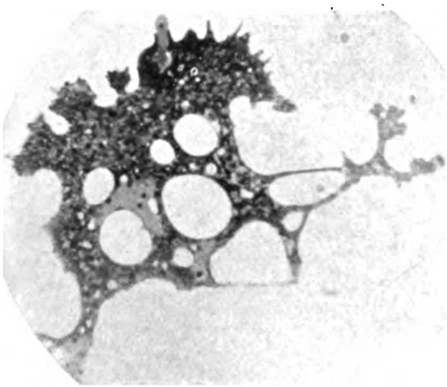


Fig. 7.

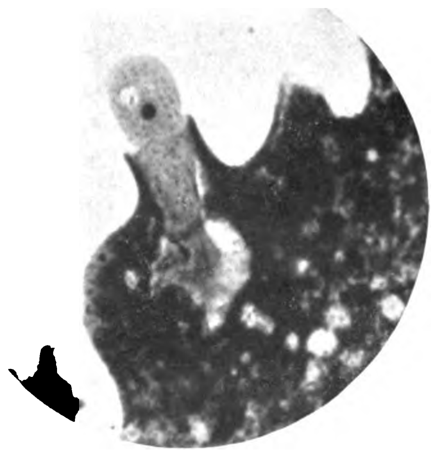


Fig. 8.

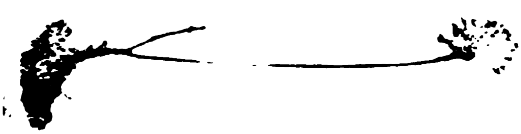


Fig. 9.

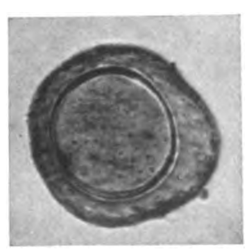
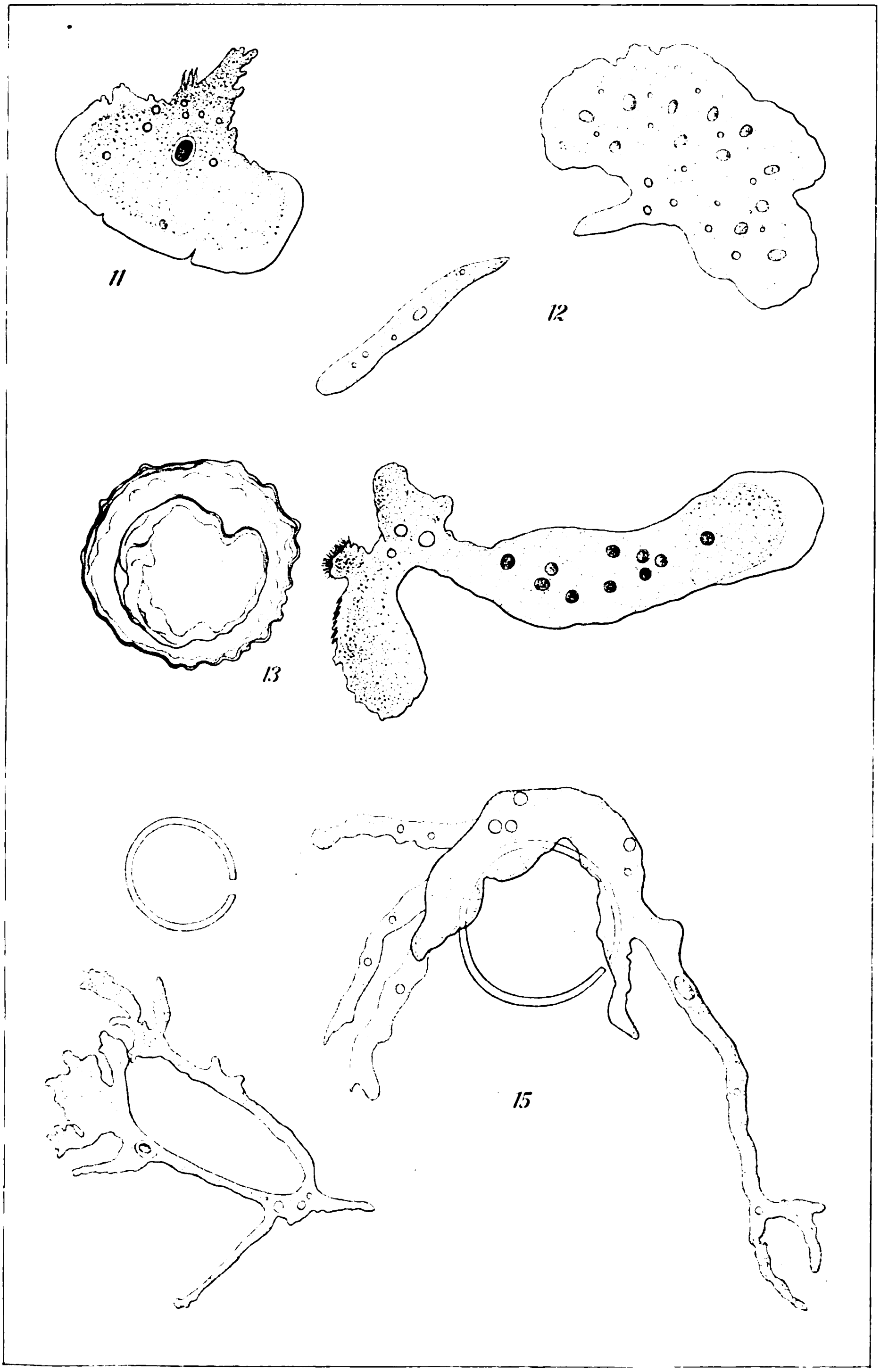


Fig. 10.

Goodey. Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Verlag von Gustav Fischer in Jena



Fig. 16.

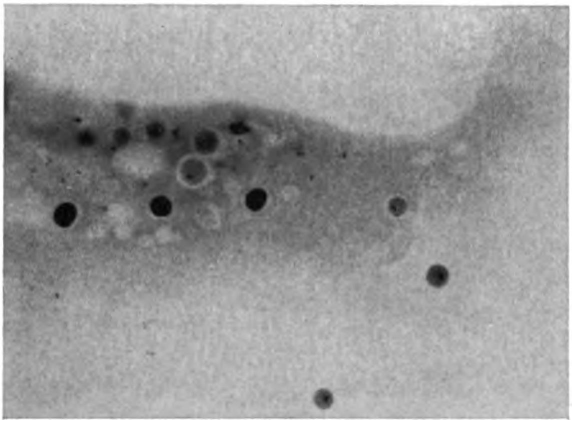


Fig. 17.

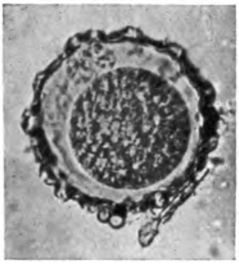


Fig. 18.



Fig. 19.

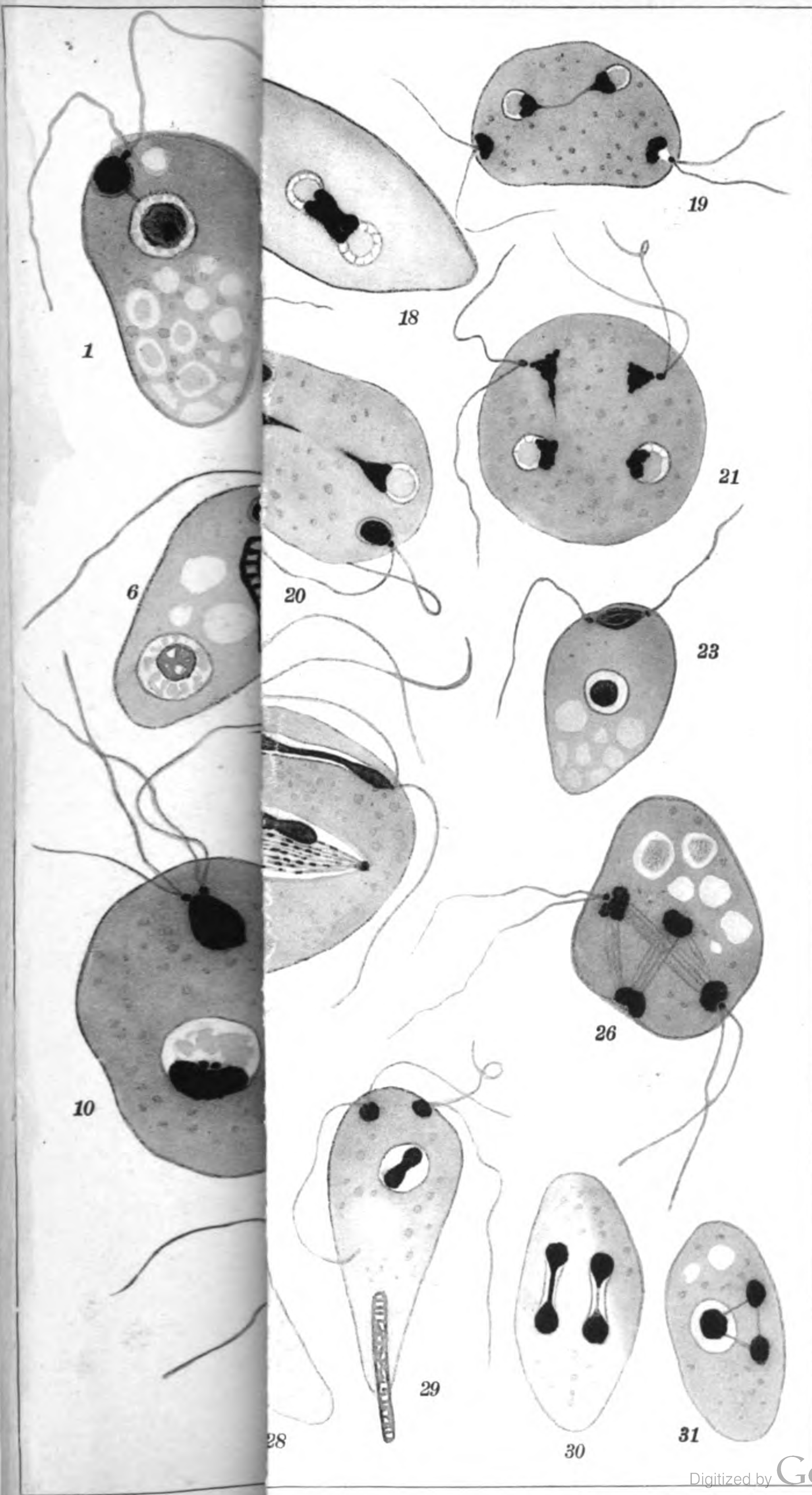


Fig. 20.



Fig. 21.

Goodey. Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**



K. Bělař del. J. B. Obernetter, München, repr.

Aus dem hygienischen Institut in Amsterdam.
(Direktor: Prof. R. H. Saltet.)

Herpetomonas homalomyiae n. sp.

Von
S. L. Brug,
Stabsarzt der Niederl.-Ind. Armee.

(Hierzu Tafel 10.)

Die Zahl der im Insektendarme schmarotzenden Flagellatenarten wächst täglich; Alexeieff machte einen Versuch, diesen Strom einzuhalten und hielt eine wohl etwas allzu radikale Aufräumung in der Familie Trypanosomidae. Er stellte dabei die meines Erachtens berechtigte Forderung, daß der Beschreibung jeder neuen Art eine Diagnose beigegeben werden sollte. Meines Erachtens brauchen die Merkmale in der Diagnose nicht immer dem flagellaten Stadium des Parasiten entnommen zu werden, doch berechtigen auch eigenartige prä- oder postflagellate Formen zur Aufstellung einer neuen Species. Die ganz eigentümlichen Formen, welche die Darmflagellaten der Larve von *Homalomyia scalaris*, während ihres Übergangs in Cystenform zeigen, haben mich zur Aufstellung der neuen Art *Herpetomonas homalomyia* geführt. Bei der Benennung der Gattung habe ich mich an die Patton'sche Nomenklatur gehalten. Im System von Chatton und Alilaire würde der unten zu beschreibende Flagellat *Leptomonas* heißen.

Die Untersuchungen wurden vorgenommen an Larven von *Homalomyia* im November 1913 bis Februar 1914. Die Larven überwinterten tadellos, aber im Frühjahr starben sie alle, ohne sich zu verpuppen. Untersuchungen an den Fliegen selbst habe ich deshalb

nicht vornehmen können. Die Larven zeigten sich im Anfang des Winters am stärksten infiziert. Nachdem es im Januar stark gefroren hatte, verschwanden ziemlich plötzlich fast alle Herpetomonaden aus den Larven. Zu Ende Januar und im Februar konnten nur noch spärliche Flagellaten aufgefunden werden. Von dem Darmkanal der Larven wurden Zupfpräparate hergestellt; gesondert von Speicheldrüsen, Coeca, Übergangsstelle des Ösophagus im Mitteldarm, Mitteldarm, Malpighi'sche Schläuche, Enddarm und Rectum [1]).

Wenn die Larven erwachsen waren, verschwanden die Coeca, auch ohne daß die Larven sich verpuppten. Die Flagellaten wurden in den Coeca, in den Speicheldrüsen und im Trichter, welche den Übergang vom Ösophagus im Mitteldarm vermittelt, nie gesehen. In den Malpighi'schen Schläuchen nur sehr selten. Die Färbung geschah nach Giemsa teilweise an Trockenpräparaten, teilweise an feucht fixierten und auch weiter feucht behandelten Präparaten.

Die Cysten unterscheiden sich in nichts von den „üblichen" *Herpetomonas*-Cysten (Fig. 1—7). Es wurden nur wenig Cysten gefunden und diese waren durch den ganzen Darm gleichmäßig zerstreut. Einige zeigten den chromatinlosen Kern und Blepharoplast, wie sie von Strichland (1911) beschrieben sind als äußerstes Stadium der Encystierung (Fig. 1—2). In der Regel lassen sich in den Cysten Kern, Blepharoplast und Chromidien deutlich unterscheiden. Die Cystenwand färbt sich nur selten rosa (Fig. 7), ist meist farblos. Die Grenze gegen das Medium habe ich in letzterem Falle mittels eines roten Striches angedeutet. Die Größe der Cyste ist 3—4,5 μ bei 5—6,5 μ.

Die Geißel wird nahe dem Blepharoplasten gebildet, und durch Wachstum der Geißel und Wachstum und Verlängerung des Leibes bildet sich aus der Cyste das flagellate Stadium (Fig. 8—11).

Der erwachsene Flagellat hat einen starren, gestreckten Körper. Er ist bis 26 μ lang und bis 3 μ breit. Im allgemeinen sind die Flagellaten im Mitteldarm länger als die im Enddarm. Der sich nicht teilende Flagellat hat fast immer nur eine Geißel; Individuen mit zwei Geißeln weisen fast immer auch andere Teilungssymptome auf. Die Geißel ist etwa so lang wie der Körper. Der

[1]) Ein grobanatomischer Unterschied zwischen Magen und Dünndarm existiert nicht. Vom Ösophagus ab bis zu den Malpighi'schen Schläuchen ist der Darm gleichmäßig dick und ich habe deshalb diesen Abschnitt mit dem einheitlichen Namen Mitteldarm belegt. Der Darm ist vor den Malpighi'schen Schläuchen dicker als dahinter. Darum vermeide ich lieber die üblichen Benennungen: Dünndarm und Dickdarm.

vor dem Blepharoplast gelegene Teil des Leibes (2—3 μ lang) unterscheidet sich von dem Rest des Protoplasmas durch mehr oder weniger rosarote Farbe (Fig. 12—16). Die Geißel setzt sich im Leibe fort bis in nächste Nähe des Blepharoplasten, ohne aber denselben zu berühren. Sie zeigt nur selten knopfförmige Anschwellungen am äußersten proximalen Ende (Fig. 17). Der intracelluläre Teil unterscheidet sich weder durch Farbe, noch durch Dicke von der freien Geißel, wenigstens wenn die Präparate nicht lange mit Azeton in Berührung gewesen sind. Läßt man das Azeton zu lange einwirken, so entfärbt es die freie Geißel stärker (Fig. 24, 29, 30). Ziemlich oft sieht man da, wo die Geißel den Zelleib verläßt, rote körnige Gebilde (Fig. 18, 19, 24). Wenn die Geißel sich vor der Encystierung in den Zelleib zurückzieht, bleiben diese Gebilde an derselben Stelle liegen. Sie folgen der Geißel nicht in den Zelleib (Fig. 29, 30). Das deutet darauf hin, daß sie nicht der Geißel selbst angehören, sondern Periplastgebilde sind.

Der Blepharoplast ist rund bis oval in ruhendem Zustande und kann von einer konzentrischen, blassen Zone umgeben sein (Fig. 13, 14, 21). Auch kann sich eine blasse Stelle nur vor oder nur hinter demselben befinden (Fig. 18, 20, 27).

Der Kern liegt etwas vor der Mitte des Leibes. Er zeigt gewöhnlich einige dunkelrot gefärbte, bisweilen durch eine Art Netz (Fig. 27) verbundene Körner in einer rosaroten Grundsubstanz. Bisweilen ist die äußere Kernzone dunkelrot und das Zentrum rosarot (Fig. 12, 25, 28). Der Kern ist oval, die Längsachse fällt zusammen mit demjenigen des Parasiten. Selten sind Kern und Blepharoplast durch einen roten oder dunkelvioletten Faden verbunden (Fig. 24, 18 40).

Das Protoplasma ist meistens homogen, seltener vacuolär (Fig. 25, 39). Es zeigt bisweilen einen hellen Streifen durch die ganze Länge des Parasiten (Fig. 12, 18). Chromidien im Protoplasma sind sehr selten (Fig. 18, 27).

U-förmige und sich in einem Kreise zusammenrollende Parasiten wurden nur selten beobachtet (Fig. 22, 23). Die interessanten Phänomene, welche Chatton et Léger (1912) beobachteten, wenn die Leptomonaden mit zerquetschten Intestinalzellen des Wirtes in Berührung kommen, habe ich, sogar wenn ich den Darm unter dem Deckglas ganz zerrieb, nie beobachten können.

Im Rectum zeigen die erwachsenen Flagellaten eine etwas abweichende Form. Der Körper verliert das Starre, Gestreckte und legt sich in elegante Wellenlinien. Auch sind diese Flagellaten dünner als die starren Mitteldarmformen (Fig. 26).

Bei der **Encystierung** wird die Geißel in geradezu typischer Weise (Fig. 29—37) eingezogen. Ohne daß der Blepharoplast sich auch nur zeitlich hinter den Kern stellt, bildet die Geißel eine sich immer weiter nach hinten in den Zellleib zurückziehende Schleife. Der Kern und auch der Blepharoplast ziehen sich ein wenig nach hinten zurück. Ersterer kommt in die hintere Hälfte der Zelle zu liegen, letzterer nähert sich demselben, aber bleibt noch immer vor ihm. Das proximale Ende der Geißel entfernt sich dabei ein wenig vom Blepharoplasten, so daß es den Anschein erweckt, als entspringe die Geißel aus dem Kern. Wenn diese Vorgänge sich vollzogen haben, tritt der Parasit in eine Ruheperiode ein. Ich schließe das aus der enormen Zahl der Individuen, welche ich in diesem Zustande im Enddarm und im Rectum fand. Sie bilden weitaus den größten Teil der Bevölkerung dieser Darmabschnitte und gleichen einander fast vollkommen, sowohl was Größe (7—8 μ bei 2 μ) als was Struktur anbetrifft. Im Rectum fanden sich nur sehr wenige Cysten. Wahrscheinlich verlassen die meisten Parasiten den Wirt in dem Stadium mit schleifenförmig eingezogener Geißel. Obgleich die Cysten die am meisten geeignete Form zur Infektion neuer Wirte sind, kann auch die Weiterverbreiterung des Parasiten ohne Encystierung erfolgen, wie es Patton für *Herpetomonas musc. dom.* in *Musca nebulosa* erwiesen hat.

Die **Teilung** bietet nichts Besonderes dar. Nur fiel es mir auf, daß nicht so ganz selten der Kern sich eher teilt als der Blepharoplast (Fig. 15, 40). Die Geißel teilt sich nicht. In einem der Tochterindividuen wird eine neue Geißel gebildet. Teilung der Cysten und der sich encystierenden Parasiten wurde nicht beobachtet. Wohl können sich die birnförmigen Übergangsstadien von Cyste zu Flagellat teilen (Fig. 38). Andeutung einer multiplen Teilung wurde nur einmal gefunden (Fig. 39), Teilungsrosetten niemals.

Diagnose von *Herpetomonas* (*Leptomonas*) ***homalomyiae***: „Gewöhnlich starrer, gestreckter Leib; seltener gebogene Formen. „Blepharoplast rund oder oval, wenn oval mit quergestellter Längs„achse. Körper nach vorn zugespitzt, aber nicht in scharfem Winkel; „nach hinten allmählich sich verjüngender Hinterleib, Spitze desselben „abgerundet. Kern eben vor der Leibesmitte. Bei der Encystierung „zieht sich die Geißel unter Schleifenbildung bis hinten in das Zell„innere zurück. Indessen der Blepharoplast stets vor dem Kerne.[1]"

---

[1]) Nur einmal (allerdings nicht während der Encystierung) sah ich den Blepharoplast neben dem Kern (Fig. 14).

Die Art ist also besonders durch die Encystierungsweise charakterisiert. In der Literatur habe ich derartige Bilder nur angetroffen bei den Figuren, welche ALEXEIEFF (1913) von *Crithidia lesnei* gibt. Dieser Flagellat bietet aber sonst genügende Unterscheidungsmerkmale dar. Durch direkte Untersuchung habe ich *Herpetomonas homalomyiae* nur mit *Herpetomonas calliphorae* (SWELLENGREBEL) vergleichen können. Dr. SWELLENGREBEL war so freundlich, mir seine Originalpräparate zur Verfügung zu stellen. Bei *Herpetomonas calliphorae* vermißt man nicht nur die für *Herpetomonas homalomyiae* charakteristischen Encystierungsformen, sondern auch in anderer Hinsicht zeigten sich große Differenzen:

So sind die präflagellaten Formen von *Herpetomonas calliphorae* viel größer (7—10 μ bei 6—9 μ) und zeigen oft eine Art rudimentäres Cytostom, da wo die Geißel den Zelleib verläßt. In der erwachsenen *Herpetomonas calliphorae* kommt ein deutlicher Rhizoplast vor, welcher sich durch die Färbung von der freien Geißel unterscheidet. Diese Verhältnisse vermißt man bei *Herpetomonas homalomyiae.*

Der Encystierungsvorgang, den ROSENBUSCH bei *Crithidia muscae domesticae* beschrieben hat, ist ganz verschieden. Nicht nur fehlt bei *Herpetomonas homalomyiae* die extracelluläre Geißelspirale[1]), sondern auch rückt der Blepharoplast nie nach dem hinteren Ende des Parasiten, was bei *Crithidia muscae domesticae* stets geschieht.

Vielleicht wird genauere Beobachtung der Encystierung auch bei anderen Arten Unterscheidungsmerkmale ans Licht bringen, wenn das Studium des erwachsenen Flagellaten versagt.

Literatur der Jahre 1911, 1912, 1913.

(Ältere Literatur findet sich bei FLU, PORTER usw.)

1911.

ALEXEIEFF: Sur les Cercomonadines intestinales de Calliphora erythrocephala MG. et de Lucilia sp. C. R. Soc. Biol. T. 71 p. 379.

—: Sur le genre Herpetomonas KENT. Ibid. p. 455.

—: Sur le famille Cercomonadina BÜTSCHLI emend. (non Cercomonadina KENT). Zool. Anz. Bd. 39 Nr. 1.

BOUET et ROUBAUD: Sur la présence au Dahomey et la mode de transmission du Leptomonas davidi LAFONT, flagellé parasite des Euphorbiacées. C. R. Soc. Biol. T. 70 p. 55.

[1]) Fig. 31 zeigt das einzige, was ich in dieser Richtung habe auffinden können.

Chatton: Sur la systematique des trypanosomides des Insectes. C. R. Soc. Biol. T. 71 p. 578.

Chatton et Léger: Eutrypanosomes, Leptomonas et Leptotrypanosomes chez Drosophila confusa Staeger (Muscide). Ibid. T. 70 p. 34.

—: Sur quelques Leptomonas de Muscides et leur Leptotrypanosomes. Ibid. p. 120.

—: Sur l'autonomie spécifique du Trypanosoma drosophilae (Ch. et Alil.) et sur les Eutrypanosomes des Muscides non sanguivores. Ibid. T. 71 p. 573.

—: Sur l'axostyle ou axoplaste des Trypanosomides des Insectes. Ibid. p. 575.

Dunkerly: On some stages in the Life-history of Leptomonas muscae domesticae, with some remarks on the Relationship of the Flagellate parasites of Insects. Quart. Journ. Micr. Sc. Vol. 56 p. 645.

Fantham: Herpetomonas pediculi n. sp., parasitic in the alimentary tract of Pediculus vestimenti, the Human Body-Louse. Proz. Roy. Soc. London Ser. B Vol. 84 p. 505.

Flu: Studien über die im Darm der Stubenfliege (Musca domestica) vorkommenden protozoären Gebilde. Centralbl. f. Bakt. und Parasitenk. I. Abt. (Orig.) Bd. 57 p. 522.

Lafont: Sur la transmission de Leptomonas davidi des euphorbes par un hemiptère: Nyscus euphorbiae. C. R. Soc. Biol. T. 70 p. 58.

Mackinnon: On some more protozoan parasites from Trichoptera. Parasitology IV p. 32.

Porter: The structure and life-history of Crith. pulicis, parasitic in the alimentary tract of the human flea: Pulex irritans. Ibid. p. 237.

Roubaud: Cercoplasma (n. gen.) Caullery (n. sp.) nouveau flagellé à formes toypanosomiennes de l'intestin d'Auchmeromyia luteola Fabr. (Muscide). C. R. Soc. Biol. T. 71 p. 503.

—: Sur un type nouveau de Leptomonades intestinales des Muscides: Leptomonas soudanensis n. sp., parasite des Pycnosomes africains. Ibid. p. 570.

—: Phénomènes autogamiques chez les Leptomonas et formes affinées, valeur sexuelle autogame des formes trypanosomiennes des Leptomonades et des formes Leptomonades des Trypanosomes. Ibid. p. 602.

Strickland: Description of a Herpetomonas, parasitic in the alimentary tract of the common green bottle fly Lucilia sp. Parasitology IV p. 222.

Swellengrebel: Note on the morphology of Herpetomonas and Crithidia with some remarks on physiological degeneration. Ibid. p. 108.

Swingle: The transmission of Trypanosoma lewisi by rat fleas (Ceratopsyllus sp. and Pulex sp.) with short descriptions of three new Herpetomonads. Journ. Inf. Dis. Vol. 8 p. 125.

Wenyon: Flagellates of House flies. Parasitology IV p. 332.

1912.

Cardamatis: Des flagellaires dans la mouche domestique. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. (Orig.) Bd. 65 p. 66.

Chatton: Trypanosoma drosophilae n. sp. Agglutination par le suc des cellules intestinales de l'hôte et cytolyse. C. R. Soc. Biol. T. 73 p. 212.

—: Leptomonas de deux Borborinae (Muscides). Evolution de Leptomonas legerorum n. sp. Ibid. p. 286.

—: Leptomonas roubaudi n. sp. parasite des tubes de Malpighi de Drosophila confusa Staeger. Ibid. p. 289.

CHATTON et DELANOE: Leptomonas pattoni et Trypanosoma lewisi chez l'adulte et la larve de Ceratopsyllus fasciatus. C. R. Soc. Biol. T. 73 p. 291.

CHATTON et LÉGER: Diversité des formes de reproduction chez les Trypanosomes des insectes. Ibid. T. 72 p. 20.

— —: Sur un mode particulier d'agglutination et de cytolyse, simulant un encyste. ment chez les Leptomonas des drosophiles. Ibid. p. 171.

— —: Trypanosomides et membrane péritrophique chez les Drosophiles. Culture et évolution. Ibid. p. 453.

— —: Du déterminisme des infections endotrophiques ou péritrophiques des Drosophiles par leur Trypanosomes. Infection larvaire et imaginale. Ibid. p. 550.

HEWITT: Fannia (Homalomyia) canicularis (LINN.) and Fannia scalaris (FABR.). Parasitology V p. 161.

HINDLE: What is the genus Leptomonas KENT. Ibid. p. 128.

HINDLE and LEWIS: Note on Crithidia cleti n. sp. parasitic in the alimentary tract of Clethus varius DALL. Ibid. p. 109.

RODHAIN, PONS, VANDERBRANDEN et BEQUAERT: Leptomonas pangoniae parasite de Pangonia infusca. Bull. Soc. Path. exot. T. 5 p. 604.

ROUBAUD: Cystotrypanosoma grayi (NOVY), Trypanosome propre de Glossina palpalis. Polymorphisme, affinités, intérêt phylogénétique. C. R. Soc. Biol- T. 72 p. 440.

—: Expériences de transmission de flagellés divers chez les muscides africains du genre pycnosoma. Ibid. p. 508.

—: Phénomènes autogamiques et formes trypanosomiennes chez quelques flagellés de Muscides africains. Ibid. p. 552.

—: Sur un nouveau flagellé à forme trypanosome des drosophiles d'Afrique: Cercoplasma drosophilae. Ibid. p. 554.

1913.

ALEXEIEFF: Quelques remarques à propos de la spécificité parasitaires. Zool. Anz. Bd. 41 p. 17.

—: Introduction à la révision de la famille Herpetomonadidae (= Trypanosomidae DOFLEIN 1911). Arch. f. Protistenk. Bd. 29 p. 313.

CHATTON: L'ordre, la succession et l'importance relatives des stades dans l'évolution des trypanosomides chez les Insectes. C. R. Soc. Biol. T. 74 p. 1175.

—: Position systématique et signification phylogénique des Trypanosomes malpighiens des Muscides. Le genre Rhynchoidomonas PATTON. Ibid. p. 551.

CHATTON et LÉGER: L'autonomie des trypanosomes propres aux muscides, demontrée par les élevages purs indéfinis. Ibid. p. 549.

FANTHAM: Note on the specific name of the Herpetomonas found in the dog-flea. Ctenocephalis canis. Bull. Soc. Path. exot. T. 6 p. 254.

NOC et STEVENEL: Flore intestinale du Stegomia fasciata adulte. Ibid. p. 708.

PROWAZEK: Beiträge zur Kenntnis der Protozoen und verwandter Organismen von Sumatra (Deli). Arch. f. Protistenk. Bd. 26 p 250.

RODHAIN, PONS, VANDERBRANDEN et BÉQUAERT: Note sur des Trypanosomides intestinaux d'Haematopota au Congo belge. Bull. Soc. Path. exot. T. 6 p. 181.

Erklärung der Figuren

(angefertigt mit Abbe's Zeichenapparat in Objekttischhöhe. Comp. Oc. 18, homog. Imm. $^1/_{12}$. Vergr. 3300 ×.)

Tafel 10.

Fig. 1—6. Cysten.
Fig. 1 u. 2. Cysten mit chromatinlosem Kern und Blepharoplast.
Fig. 8—11. Bildung des Flagellaten aus der Cyste.
Fig. 12—27. Erwachsene Flagellaten.
Fig. 28. Caryosomteilung (?).
Fig. 29—37. Encystierung.
Fig. 38. Teilung eines noch nicht erwachsenen Flagellaten.
Fig. 39. Multiple Teilung.
Fig. 40. Teilungsform mit geteiltem Kern und ungeteiltem Blepharoplasten.

Aus dem hygienischen Institute in Amsterdam
(Direktor Prof. R. H. Saltet).

Octosporea monospora (Chatton u. Krempf).

Von

S. L. Brug,

Stabsarzt der Niederl.-Ind. Armee.

(Hierzu Tafel 11 u. 12 und 2 Textfiguren.)

Material und Methode.

Im Monat November 1913 untersuchte ich mehrere Larven von *Homalomyia scalaris,* um die bei ihnen schmarotzenden Flagellaten zu studieren. Alle Larven erwiesen sich infiziert mit *Octosporea monospora* (Ch. u. K.). Die am gleichen Orte in den Monaten Januar und Februar gefundenen Larven erwiesen sich als viel weniger stark infiziert. Vegetative Formen konnten dann nicht mehr aufgefunden werden. Wohl waren in allen Larven Sporen zu finden, in den meisten allerdings sehr wenige.

Die Microsporidien wurden in frischem Zustande studiert und gefärbt in Zupfpräparaten des Darmes und in Schnitten. Die Zupfpräparate wurden nach Giemsa gefärbt, entweder nach feuchter Fixation mittels Schaudinn's Sublimat-Alkohol und mit nachfolgender Durchführung durch die Aceton-Xylolreihe, oder nach Trocknung an der Luft und Fixation mit Alkohol. Die Schnitte wurden nach Giemsa und mit Hämatoxylin nach Heidenhain gefärbt. Leider zeigte es sich, daß, als ich im Februar anfing die Larven zu schneiden, vegetative Stadien und intracelluläre Sporen nicht mehr anwesend

waren. Obgleich die Larven keine Neigung zur Verpuppung zeigten, enthielten sie nur Sporen innerhalb der im Darm liegenden von der Darmwand abgestoßenen Membranen. Chatton u. Krempf beschrieben denselben Zustand bei sehr jungen Imagines von zwei Arten von *Drosophila*.

Als vorteilhaft für das Studium der Sporen erwies sich eine intensive Giemsa-Färbung: In einer Verdünnung der Giemsa-Lösung von Dr. Grubler von 1 auf 10 ccm Wasser wurden die Präparate 8—16 Stunden belassen.

Beschreibung des Microsporidiums.

Die vegetativen Formen sowie die Sporen liegen ursprünglich in den Darmepithelzellen, fallen aber (auch die erstere) öfters unversehrt in das Darmlumen. Es sind gerade diejenigen freiliegenden Individuen, an welche ich in den Zupfpräparaten am besten die Zellstruktur zu sehen bekam. Die Bilder, welche derartige freiliegende Parasiten zu sehen gaben, stimmten im wesentlichen überein mit dem, was ich von den intracellulär liegenden Formen zu Gesicht bekam. Die vegetativen Formen (Meronten oder Schizonten) sind annähernd runde Zellen ohne Membran, mit einem sich mehr oder weniger ungleichmäßig dunkelblau färbenden, aber nie deutlich vacuolisierten Protoplasma. Sie haben einen kompakten Kern, von dessen Struktur in der Regel nur wenig zu sehen ist und der sich tiefrot färbt. Meistens ist die Peripherie des Kernes stärker gefärbt als das Zentrum und im letzteren tritt ein heller gefärbter Raum auf (Fig. 1, 2, 4, 5, 14). In einigen Fällen, besonders in den mehrkernigen, sich teilenden Zellen sind 1 bis 4 dunkler gefärbte Körner in dem Kern nachweisbar (Fig. 6, 8, 12). Um den Kern zeigt das Protoplasma konzentrisch meistens eine helle Zone, die wohl einer Schrumpfung des Kernes während der Präparation ihre Existenz verdankt. Die einkernigen Meronten sind 4 bis 5 μ groß. Die multiplikative Vermehrung geschieht durch eine binäre Teilung. Der Kern teilt sich einfach, amitotisch (Fig. 3) die beiden neuen Kerne wandern auseinander nach der Peripherie der Zelle (Fig. 4, 5). Die Zelle nimmt eine länglich ovale Form an (Fig. 6). In der Mitte tritt eine Einschnürung (Fig. 7, 8) auf, die Zelle wird halterförmig und die beiden Tochterindividuen trennen sich. — Weitaus die größte Zahl dieser Zellen hat ein oder zwei Kerne. Von der zweikernigen ist ein großer Teil oval oder hantelförmig. Vereinzelt aber begegnet man auch Individuen mit mehreren Kernen (Fig. 9—14). Ich

deute das so, daß die Plasmateilung hier verzögert ist. Die wiederholte Kernteilung ist hier der Plasmateilung vorausgeeilt. Durch nachträgliche Plasmateilung (Fig. 14) können sich hier wiederum normale Verhältnisse herausstellen. Die relative Seltenheit derartiger mehr als zweikernige Meronten gegenüber der großen Frequenz der zweikernigen Hantelformen hat mich dazu gebracht, ersteren keine tiefere Bedeutung beizumessen, als eine Abart der binären Teilung.

Die Sporenbildung.

Die Übergangsformen der Meronten in Sporen finden sich besonders in diejenigen Wirtszellen, die ebensowohl mit Sporen als mit Meronten infiziert sind. Die Sporonten entstehen direkt aus den Meronten dadurch, daß letztere eine länglich ovale Gestalt annimmt (Fig. 15, 16), während der Kern nach einem der Enden der Zelle wandert (Fig. 16, 17). Zugleich sondert sich an der Peripherie des Sporonten eine sich mit Giemsa nicht färbende Substanz ab, die spätere Sporenhülle (Fig. 17, 19, 20). Die ovale Gestalt ändert sich in eine gekrümmte, und die Spore bekommt die definitive Sichelform (Fig. 18, 19). Niemals wurden Bilder beobachtet, aus denen hervorgehen könnte, daß sich aus einem Sporonten mehr als eine Spore bildet. Wo mehrere Sporen zusammenliegen, sind sie ohne Ordnung gruppiert. Mehrere Sporen in eine Membran vereint wurden nie angetroffen.

Die Reifung der Spore.

Bezüglich der Orientierung an die Spore werde ich in der Folge diejenigen Pole, wo sich der Kern bei der Sporenbildung vorfindet, als den oberen Pol bezeichnen und in den Figuren diesen Pol stets nach oben orientieren. Bei der Reifung der Spore spielen sich sowohl am Kerne als am Protoplasma interessante Änderungen ab. Über die Änderungen am Kernapparat ist viel gestritten worden. Bei allen genauer studierten Microsporidiensporen sieht man während der Reifung mit Giemsa sich als Chromatin färbende Körner auftreten und verschwinden oder wenigstens einen großen Teil ihrer Färbbarkeit einbüßen. Schuberg ist in seiner Arbeit über das Microsporidium des Barbenhodens (*Pleistophora longifilis*) gegen die von Stempell behauptete Kernnatur derartiger, sich mit Giemsa rot färbender Gebilde (so wie letzterer Autor sie beim *Glugea anomalum*

beobachtete) energisch aufgetreten. Nun habe ich bei *Octosporea monospora* nachweisen können, daß diese sich mit Giemsa rot färbenden Körner oder sonstige Gebilde in gewissen Stadien ihrer Existenz durch sich ebenfalls rotfärbende Fäden mit dem Kerne verbunden sind. Dadurch ist erwiesen, daß diese Gebilde tatsächlich vom Kerne herstammen. Ob sie auch wirklich Kerne sind, darüber getraue ich mich nicht eine Entscheidung zu treffen. Daß sie einer regelrechten Kernteilung ihre Existenz verdanken, habe ich nicht erweisen können. Diese zwischen dem Kerne und dem (sich hauptsächlich in den beiden Polen befindenden) chromatischen Gebilde sich erstreckenden Fäden haben es ermöglicht, wenigstens einigermaßen den Weg zu finden in die komplizierten Prozesse am Chromatin, welche die Reifung der Spore begleiten.

Am Anfang befindet sich der Kern in dem oberen Pol der Spore. Nachdem sich aus dem Kerne ein sich rot färbendes Gebilde abgesondert hat, das in bezug auf die Größe dem Kern nahekommt und daß noch längere Zeit auf der beschriebenen Weise mit dem Kern in Verbindung bleibt (Fig. 21, 22, 27), wandert der Kern zurück nach die Mitte der Spore. Hier sendet der Kern zwei, meistens kleine, chromatische Körner nach dem hinteren Pol der Spore, wo sich später die Vacuole bildet, oder wo dieselbe schon in der Bildung begriffen ist. Diese Körner können noch längere Zeit mittels dünner kaum sichtbarer roter Fäden mit dem Kerne verbunden bleiben (Fig. 25—30). Nachdem auf diese Weise der Kern die beiden Pole der Spore mit chromatischen Substanzen versehen hat, oder während dies erst noch geschieht, teilt sich der Kern äqual. Diese Kernteilung vollzieht sich der Hauptsache nach amitotisch. Der Kern sondert sich in zwei getrennten Chromatinmassen (Fig. 25, 30), die auseinanderwandern, gewöhnlich parallel der Längsachse der Spore (Fig. 31). Sie bleiben noch einige Zeit verbunden durch ein breites sich rosarot färbendes Band (Fig. 32—35). In der Mitte dieses Bandes zeigt sich eine sich etwas dunkler färbende quer über das Band ziehende Masse (Fig. 32—35) wie eine Äquatorialplatte bei mitotischen Kernteilungsfiguren. Bisweilen kann man beobachten, daß diese Masse aus zwei gesonderten Körnern besteht, die zu jeder Seite am Rande des rosaroten Bandes liegen (Fig. 34). Sonst deutet aber nichts darauf hin, daß hier wirklich eine Mitose stattfindet. Was das weitere Geschick der zwei entstandenen Kerne ist (Fig. 36, 38), ist nicht sicher. Aber in Stadien der Reifung, welche ich später deuten möchte, findet sich in der Mitte der Spore nur noch ein Kern vor. Ob die zwei Kerne wieder-

um verschmelzen, oder ob einer der zwei verschwindet, muß ich dahingestellt sein lassen. Die weiteren Schicksale der chromatischen c. q. metachromatischen Substanz werde ich getrennt besprechen, und zwar diejenige an den beiden Polen und diejenige in der Mitte der Spore.

Die chromatische Masse am oberen Ende der Spore erleidet Veränderungen, über deren Reihenfolge ich nur mehr oder weniger wahrscheinliche Vermutungen aussprechen kann, welche einen immerhin etwas spekulativen Charakter tragen.

Mittels starker Giemsa-Färbung und nachfolgender Acetondifferenzierung lassen sich in diesem Pole tiefrot gefärbte Körner in einer rosarot gefärbten Grundsubstanz nachweisen (Fig. 28, 36, 38). Auf einem späteren Stadium färbte sich der obere Pol der Spore nicht mehr rot, sondern tiefviolett (Fig. 39). Es ist dieses ein sich tiefviolett färbendes Gebilde, das wie eine Kappe der Spore aufsitzt und das Chatton u. Krempf für die Polkapsel halten, das ich aber lieber mit dem nichts präjudizierenden Namen Polkörper belegen möchte. Haben doch Chatton u. Krempf nur schwache Beweise für die Polkapselnatur des betreffenden Gebildes geliefert.

Wenn man die Sporen, welche einen derartig tiefvioletten Polkörper zeigen, nach der Giemsa-Färbung mit Jodjodkaliumwasser behandelt, färbt sich der Polkörper dunkelgraubraun, während der Kern völlig entfärbt wird und das Blau des Protoplasma sich in Hellgrau verwandelt (Fig. 40, dieselbe Spore vor und nach Jodeinwirkung). Setzt man die nach Giemsa gefärbten Sporen etwa 5 Minuten der Wirkung 1 proz. Schwefelsäure aus, dann wird der Polkörper rotbraun, während sich der Kern ganz, und das Protoplasma größtenteils entfärbt (Fig. 41). Die Farbe, welche der Polkörper mit Giemsa annimmt, und die genannten Reaktionen mit Jodwasser und Schwefelsäure, zeigen, daß der Polkörper wenigstens teilweise aus Volutin besteht, ein Chromatinderivat, das auch in den Sporen von *Pleistophora gigantea* gefunden worden ist (Swellengrebel). Der Polkörper existiert, nach der großen Anzahl Sporen zu urteilen, welche dieses Gebilde zeigen, relativ lange Zeit. Aber am Ende fängt er doch an abzublassen und schließlich ist am oberen Ende der Spore nur noch eine sich schwach rosa färbende Stelle von wenig konstanter Form zu sehen (Fig. 48, 46, 49, 52, 53). Ganz vermißt habe ich indessen diese rotgefärbte Stelle nur in sehr wenig Sporen. Ch. u. K. betrachten die Sporen mit stark gefärbtem Polkörper als reife Sporen. Ich fand aber derartige Sporen am häufigsten intracellulär. Wenn sie extracellulär liegen, ist es fast immer in

großen Haufen im Mitteldarm. Die zerstreut im Darm, besonders die im Rectum liegenden Sporen, welche ich im großen und ganzen als älter betrachte, zeigen fast nie den stark gefärbten Polkörper.

Mit zunehmender Reifung der Sporen blaßt auch der Kern ab und in den meisten Sporen mit stark gefärbtem Polkörper ist der Kern nur noch rosa gefärbt (Fig. 40, 41, 50, 47). Gewöhnlich geht der Abblassung des Kernes diejenige des Polkörpers voran, bisweilen aber begegnet man auch Sporen mit gut gefärbtem Kern und schon ausgeblichenem Polkörper (Fig. 49, 54). Nur selten ist gar nichts mehr vom Kern zurückzufinden (Fig. 52).

In vielen Sporen mit deutlichem Polkörper und weniger oft in solchen ohne denselben sind Form und Lage des Kernes ganz typisch. Der Kern hat in diesen Fällen Stabform und zieht schräg durch die Spore. Er ist gleichmäßig gefärbt oder die Enden sind stärker gefärbt als die Mitte (Fig. 46). Das gesetzmäßige in der Lage des Kernes ist nun, daß er stets von unten von der konkaven Seite der Sporen nach oben nach der konvexen Seite sich erstreckt, also immer in der Weise (Fig. 40, 43, 44, 46, 47, 48, 54) wie in Textfig. A.


Fig. A.


Fig. B.

Sporen, in denen der Kern sich in entgegengesetzter Schrägstellung befindet (also von oben an der konkaven Seite nach unten an der konvexen Seite), wie in Textfig. B, wurden nicht beobachtet. Dagegen mehrere Hunderte vom Typus Textfig. A. Ich glaube, daß diese Feststellung eine tiefere Bedeutung hat. Die große Mannigfaltigkeit der Bilder, welche die Sporen zeigen, besonders in bezug auf die sich als Chromatin färbenden Gebilde, wirkt im Anfang derartig verwirrend, daß man zu dem Schluß kommen möchte, es handele sich hier um Prozesse ohne Regel und Ordnung. Die Beobachtung aber, daß, wenn der Kern sich in Stabform schräg stellt, dies immer in der Weise geschieht wie in Textfigur 1 skizziert, während eine Lage wie in Textfigur 2 abgebildet, nie vorkommt, zeigt eine große Gesetzmäßigkeit in den Änderungen am Kerne. — Wie Fig. 47 und 48 zeigen, kann der Kern auch in Schrägstellung abblassen.

Die zwei chromatischen Körner, welche der Kern nach dem unteren Ende der Spore sendet, verschwinden bald.

Die Reifungserscheinungen am Protoplasma bestehen in 1. Bildung der Vacuole, welche am unteren Ende der Spore vor sich geht. Viele Bilder geben den Eindruck, daß die Vacuole sich zuerst nicht gerade an dem unteren Pole bildet, aber ein wenig mehr nach der

konkaven Seite der Spore hin (Fig. 31, 32, 42). Ist die Vacuole völlig ausgebildet, dann ist in der Regel die untere protoplasmatische Begrenzung derselben nicht mehr oder kaum sichtbar zu machen. 2. Im Anschluß an die Vacuole zieht sich durch das Protoplasma ein heller Streifen mehr oder weniger deutlich nach oben. Bisweilen folgt dieser Streifen gerade der Achse der Spore (Fig. 25, 54). Meistens zieht er schräg durch das Protoplasma und dann immer in dieselbe Richtung, welche der stabförmige, schräggestellte Kern annimmt, d. i. also immer von unten an der konkaven Seite nach oben gegen die konvexe Seite (Fig. 31, 39, 40, 45). Gerade in diesen Fällen erscheint der helle Streifen am schärfsten begrenzt, nimmt einen oft schnurgeraden Verlauf und imponiert am meisten als ein besonderes Gebilde, dessen Bedeutung mir allerdings entgangen ist. Obgleich der stabförmige Kern und der hellere Streifen sich immer in demselben Sinne schräg stellen, so besteht keine direkte Abhängigkeit dieser zwei Erscheinungen voneinander (Fig. 39, 45, 54).

Der durch das Protoplasma ziehende hellere Streifen zusammen mit der Vacuole teilt bisweilen die untere Hälfte des Protoplasma in zwei schwanzartige Anhänge (Fig. 51, 49). Wenn zugleich auch der Polkörper gut gefärbt ist, kann, wie Ch. u. K. bemerken, die ganze Spore das Aussehen eines Kometen bekommen.

Die Sporenschale umhüllt die Spore gleichmäßig. Sie färbt sich mit Giemsa nur sehr selten rosarot (Fig. 33) und macht sich meistens als eine weiße, die Spore genau konzentrisch umgebende Zone kenntlich. In den Zupfpräparaten wird die Außengrenze der Schale, durch die sich da mit Vorliebe anhäufenden Bakterien, sonstigen Darminhalt der Larve und aus der Giemsa-Lösung präzipitierende Partikel, angedeutet. Eine derartige Spore sieht in Wirklichkeit aus wie in Fig. 54. In den anderen Figuren habe ich, um die Bilder nicht zu sehr zu entstellen, die Außengrenze der Schale mit einer roten Linie angegeben, oder wenn die beobachtete Spore sich intracellulär befand, mit einer blauen Linie. Diese Linien gehören also nicht der Spore an, sondern dem Milieu, in welchem diese liegt. Daß die helle Zone um die Spore nicht durch eine Schrumpfung der Spore während der Präparation entsteht, geht daraus hervor, daß die Spore gar kein geschrumpftes Aussehen hat, und weiter aus der Gleichförmigkeit, womit sich diese Zone um jede Spore zeigt, wobei immer der Sporenumriß genau konzentrisch verläuft.

Andeutungen einer Naht in die Sporenschale habe ich nie beobachtet.

In frischem Zustande ist an der Spore nur der Umriß zu sehen, und man bemerkt weiter, daß sie stark lichtbrechend ist. Sonstige Struktureigentümlichkeiten konnten in frischem Zustande nicht beobachtet werden. Versuche mit verschiedenen Reagentien haben nie die Anwesenheit eines Polfadens gezeigt.

Außer Meronten und den Sporen, wie sie in obigen Zeilen beschrieben sind, war im Darm der Larve noch eine dritte Art Zellen anwesend, die ich als zum Microsporidium *Octospora monosporea* gehörig betrachten möchte. Diese Zellen unterscheiden sich von den Meronten durch: beträchtliche Größe, weniger regelmäßige Form, sie sind gewöhnlich nicht so genau kugelförmig wie die Meronten; ihr Protoplasma ist nicht so hellblau gefärbt, sondern blaßblau (Taf. 12).

Besonders der Kern dieser Gebilde ist ganz abweichend gebaut. Anstatt den kompakten Merontenkern zeigen diese Zellen einen aufgelockerten Kern, ein achromatisches netzförmiges Gerüst, in dem mehr oder weniger deutlich Chromatinkörner zerstreut liegen. Das Gerüst ist gegen das Protoplasma nicht scharf abgegrenzt und öfters setzt sich das letztere in die Maschen des Gerüstes fort. Schließlich kann das Gerüstwerk des Kernes verschwinden und finden sich in der Zelle noch nur im Protoplasma zerstreute Chromatinkörner mit Trümmern des Kerngerüstes (Fig. 65).

Diese Gebilde finden sich nur in den Larven, worin man zahlreiche typische Meronten findet. Als im Januar die vegetativen Formen der Microsporidien ausgestorben waren, konnte ich die großen, unregelmäßig gestalteten, blaßgefärbten Zellen mit aufgefasertem Kerne ebensowenig wie die typischen Meronten zurückfinden. Auch sind diese Formen durch allerhand Übergänge mit den Meronten verbunden. In Fig. 55 fängt der kompakte Merontenkern an, sich in ein Kernnetz umzubilden (vgl. auch Fig. 6 der Kern rechts). In Fig. 56 ist ein Kernnetz allereinfachster Sorte entstanden, nämlich ein Ring mit Chromatinkörnern. In Fig. 57 fängt einer der Kerne an sich netzförmig zu gestalten. In einigen mehrkernigen Formen hat nur ein Teil der Kerne diese Änderungen erlitten (Fig. 60, 61). — Die Übergangsformen, welche diese Zellen mit den Meronten verbinden, und das immerhin gemeinsame Vorkommen mit letzteren, macht es rationell erscheinen, sie dem Microsporidium einzureihen. Welche Bedeutung sie haben in der Lebensgeschichte der

Octosporea, ist mir nicht ganz klar geworden. Der Umstand, daß sie nur extracellulär, d. h. im Darmlumen, und nie intracellulär gefunden wurden, möchte darauf hindeuten, daß sie Degenerationsprodukte sind, welche entstehen aus Meronten, die unzeitig, d. i. bevor sie zu Sporen geworden sind, aus der Wirtszelle in das Darmlumen fallen und sich ihrer neuen Umgebung nicht anpassen können.

Auch Flu hat bei den naheverwandten *Octosporea muscae domesticae* Dimorphismus der „runden Zellen" gefunden. Er fand ebenfalls 1. Zellen mit dunkel gefärbtem Protoplasma und kompaktem Kerne und daneben 2. andere mit blaßblauem Protoplasma und weniger kompaktem Kern. Derartige mit ganz aufgelockerter netzförmig angeordneter Kernsubstanz scheint er aber nicht beobachtet zu haben. Wohl gibt es eine der Fig. 65 sehr ähnliche Figur („Chromidialzustand"). Ch. u. Kr. erwähnen nur eine Art runde Zellen, die wohl den von mir beschriebenen Meronten gleichzustellen sind, sowohl bei *O. muscae domesticae* als bei *O. monospora.*

Diese Divergenz in den Beobachtungen von Ch. u. K. einerseits, von Flu und mir andererseits, während die Ch. u. K.'schen und meine Beobachtungen sonst größtenteils übereinstimmen, möchte darauf hindeuten, daß die großen blassen Zellen mit aufgelockertem Kern kein obligates Stadium in der Entwicklung der *Octosporea* darstellen, sondern mehr zufälligen Umständen ihre Existenz verdanken. Ein Bild, wie es Fig. 66 zeigt, kann den Gedanken wachrufen, die blassen Zellen seien die Sporonten, aber dieses Bild steht ganz vereinzelt da.

Es ist kaum zu bezweifeln, daß das bei *Homolomya scalaris* parasitierende Microsporidium identisch ist mit dem von Ch. u. Kr. beschriebenen Parasit von *Drosophila confusa* und *Drosophila plurilineata: Octosporea monospora.* Nur das von genannten Autoren angegebene Vorkommen von „Pansporoblastes binucléés" kann ich nicht bestätigen. Wohl zeigt die Spore in gewissen Stadien zwei Kerne, aber dann ist das Pansporoblastenstadium schon längst vorüber.

Dunkerly (1912) weist die Gattung *Octosporea* zurück, weil sie kein Unterscheidungsmerkmal hat von der *Thelohania.* Ch. u. K. geben als Diagnose: „Genre *Octosporea* Flu 1910: Microsporidies à pansporoblastes isolés, sans reliquat somatique, à spores allongées,

subcylindriques, plus ou moins arquées, à extrémités subsemblables, capsule polaire et vacuole invisible à l'état frais. Les noyaux pariétaux des spores et le noyau capsulaire ne sont pas équivalents aux deux noyaux sporoplasmiques. Capsule polaire petite, sphérique, terminale. Parasite des Muscides."

Octosporea unterscheidet sich von *Thelohania* besonders durch die Form der Sporen, bei *Thelohania* eiförmig oder oval, bei *Octosporea* länger „subcylindriques" und durch die „Capsule polaire petite, sphérique terminale".

Daß die „note préliminaire" von Ch. u. K. von einer ausführlicheren Arbeit über das Genus *Octosporea* gefolgt worden ist, ist mir unbekannt. Während die genannten Autoren die Sporenzahl als Gattungsmerkmal der Microsporidien verwerfen, geben sie kein anderes System der Microsporidien und bleiben die Beziehungen der Gattung *Octosporea* zu anderen Genera noch dunkel.

Am Ende dieser Arbeiten möchte ich meinen herzlichsten Dank bezeugen an Prof. de Meyere u. Dr. Swellengrebel für manche gute Ratschläge und stetes Interesse während der Bearbeitung.

Literaturverzeichnis.

1894 Thélohan: Sur la présence d'une capsule à filament dans les spores des Microsporidies. C. R. Soc. Biol. T. 44 p. 505.

1895 —: Recherches sur les Myxosporidies. Bull. sc. de la France et de la Belgique. T. 26 p. 100. Ref. im Centralbl. f. Bakt. Bd. 19. S. 407.

1897 Leger: Sur une nouvelle myxosporidie de la famille des Glugeidées. C. R. Ac. Sc. T. 125 p. 260.

1903 Hesse: Sur une nouvelle microsporidie tetrasporée du genre Gurleya. C. R. Soc. Biol. T. 55 p. 495.

—: Sur la présence de Microsporidies du genre Thelohania chez les Insectes. C. R. Acad. Sc. T. 137 p. 418.

Marchoux, Salimbeni et Simond: La fièvre jaune, rapports de la mission française. Ann. Inst. Pasteur T. 17 p. 665.

1904 Hesse: Thélohania Legeri n. sp. Microsporidie nouvelle, parasite des Larves d'Anopheles maculipennis Meig. et sur le Développement de Thélohania legeri. C. R. Soc. Biol. T. 57 p. 570 et 571.

Pérez: Sur une microsporidie parasite du Corcinus moenas. Ibid. p. 214.

Stempell, Über Nosema anomalum Monz. Arch. f. Protistenk. Bd. 4 S. 1.

1906 Pérez: Sur un cas d'envahissement de l'ovaire par Thelohania moenadis. C. R. Soc. Biol. T. 60 p. 1091.

Perrin: Observations on the Structure and Life History of Pleistophora periplanetae Lutz u. Splendore. Quart. Journ. Micr. Sc. Vol. 49 p. 615.

1907 Stempell: Die Pébrinekrankheit der Seidenraupen. Sitz.-Ber. nat. hist. Ver. preuß. Rheinl. u. Westfalen. C. p. 14.

1908 Keysselitz: Die Entwicklung von Myxobolus Pfeifferi Th. Arch. f. Protistenk. Bd. 11 S. 252.

Mercier: Néoplasie du tissu adipeux chez les Blattes (Periplaneta orientalis) parasitées par une microsporidie. Ibid. p. 372.

—: Sur le développement et la structure des spores de Thelohania giardi Henneguy. C. R. Acad. Sc. T. 146 p. 34.

Pérez: Sur Dubosquia legeri, microsporidie nouvelle, parasite du Termes lucifugus et sur la classification des microsporidies. C. R. Soc. Biol. T. 65 p. 631.

Pérez: Sur une microsporidie nouvelle parasite du Termitelucifuge. Proc. verb. Soc. Sc. phys.-nat. Bordeaux 1908/1909. p. 17.

1909 Mercier: Contribution à l'étude de la sexualité chez les myxosporidies et chez les microsporidies. Acad. Roy. de Belgique, Classe des Sciences. Mémoires 2me Sér. T. II p. 1.

Schröder: Thelohania chaetogastris eine neue in Chaetogaster diaphanus Gruith schmarotzende Microsporidienart. Arch. f. Protistenk. Bd. 14 S. 119.

Shiwago: Über die Vermehrung von Pleistophora periplanetae, L. u. S. Zool. Anz. Bd. 34 S. 647.

Stempell: Über Nosema bombycis Naegeli. Arch. f. Protistenk. Bd. 16 S. 281.

1910 Auerbach: Die Cnidosporidien, eine monographistische Studie.

Leger et Hesse: Cnidosporidies des larves d'Ephémères. C. R. Acad. Sc. T. 150 p. 411.

Schuberg: Über Microsporidien aus dem Hoden der Barbe und durch sie verursachte Hypertrophie der Kerne. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 33 p. 401.

Stempell: Zur Morphologie der Microsporidien. Zool. Anz. Bd. 35, S. 801.

1911 Awerinsew u. Fermor: Studien über parasitische Protozoen: Zur Frage über die Sporenbildung bei Glugea anomala. Arch. f. Protistenk. Bd. 23 S. 1.

Chatton: Sur une cnidosporidie sous cnidoblaste (Paramyxa paradoxa n. g., n. sp.). C. R. Acad. Sc. T. 152 p. 631.

Chatton et Krempf: Sur le cycle évolutif et la position systématique des protistes du genre Octosporea Flu, parasites des Muscides. Bull. Soc. Zool. France T. 36 p. 172.

Fantham and Porter: A bee disease due to a protozoal Parasite (Nosema apis). Proc. Zool. Soc. London Part. III p. 625.

Flu: Studien über im Darm der Stubenfliege (Musca domestica) vorkommende protozoäre Gebilde. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. (Orig.) Bd. 57 p. 522.

Swellengrebel: The Life-history of Pleistophora gigantea Thélohan (Glugea gigantea Thél.). Parasitology IV p. 345.

1912 Cardamatis: De quelques microsporidies chez la Mouch domestique. Centralbl. f. Bakt. u. Par. I. Abt. (Orig.) Bd. 65 S. 77.

Dunkerly: On the occurence of Thélohania and Prowazekia im Anthomyid flies. Ibid. Bd. 62 S. 136.

Erklärung der Figuren.

(Diese wurden angefertigt mit Abbe's Zeichenapparat, in Objekttischhöhe. Comp. Oc. 18, hom. Im. $^1/_{12}$. Vergr. 3300 ×.

Tafel 11.

Fig. 1 u. 2. Meronten.
Fig. 3—8. Teilung derselben: Multiplikative Vermehrung.
Fig. 9—14. Mehrkernige Meronten.
Fig. 15—20. Sporenbildung.
Fig. 21—54. Reifung der Spore (siehe Text).
Fig. 40. Dieselbe Spore vor und nach Behandlung mit Jodium.
Fig. 41. Dasselbe mit 1 proz. Schwefelsäure.

Tafel 12.

Fig. 55—65. Degenerations(?)formen.
Fig. 66. Sporenbildung (?) in degenerierendem Meront.

Aus der inneren Fakultätsklinik der Kais. Universität zu Kasan
(Prof. A. N. KASEM-BEK).

Über Kulturen der Plasmodien des tropischen Fiebers (*Malaria tropica*).

Von
Dr. G. J. **Perekropoff.**

(Zum Andenken an N. K. KOHL-YAKIMOFF.)

(Hierzu Tafel 13—15.)

Indem ich die von BASS und JONS für die Züchtung der Malariaparasiten empfohlene Technik ein wenig modifizierte, konnte ich von 7 Fällen in 2 erfolgreicheren nicht nur Schizogonie, sondern auch Sporogonie mit der Bildung von Sporocysten in Erythrocyten, aus denen sich dann junge Parasiten entpuppten, erzielen.

Die wesentlichsten Abänderungen der Technik einer Gewinnung von Kulturen der Malariaparasiten bestanden in folgendem: 1. die Menge der angewandten 50proz. Dextroselösung war bei uns 4mal so groß, als wie BASS empfohlen hatte, d. h. je 0,4 pro 10 ccm Malarikerblut; 2. die Inaktivierung des Blutserums wurde längere Zeit vorgenommen, als wie dieser Autor angegeben hat; wir erhitzten dasselbe im Laufe einer halben Stunde auf 41° C und ebenso lange auf 42° C, im ganzen also im Laufe einer Stunde; 3. zu Überimpfungen nahmen wir ein Blutserum, in welchem das Komplement bei 55—56° C zersetzt worden war; 4. die Überimpfungen fanden 5—6 Stunden nach der normalen Segmentation der Parasiten in

Zylindern statt; 5. verimpft wurde das Material in ein an Nährmaterial reicheres Medium, welches aus 0,04 ccm einer 50proz. Dextrose- oder Maltoselösung mit Zusatz von 0,2—0,4 ccm Blutserum oder Loeke'scher Flüssigkeit bestand; 6. bei den Überimpfungen betrug die Menge der parasitenhaltigen roten Blutkörperchen $^2/_5$ gegen $^3/_5$ frischer Erythrocyten; 7. Centrifugieren des die Parasiten enthaltenden Blutes, wodurch die letzteren traumatisiert werden konnten, wurde von uns in sämtlichen Fällen vermieden. Die Versuchsanordnung bei Anfertigung einer Kultur der Malariaparasiten war folgende: 1. Das Blut zur Aussaat wurde den Kranken 5 Stunden nach der Malariaattacke und 2—3 Stunden nach einer sättigenden Mahlzeit sowie bei niedriger Körpertemperatur entnommen; Proben wurden alle 2—4—6 Stunden angestellt; Strichpräparate fertigten wir auf Deckgläsern an, fixierten sie mit Methylalkohol und färbten sie nach Giemsa; die Überimpfungen stellten wir nach 24 Stunden im Momente der Sporulation, welche mikroskopisch kontrolliert wurde, sowie in der 30. Stunde, nachdem die meisten Merozoiten in Erythrocyten eingedrungen waren, an; im letzteren Falle waren die Resultate bessere.

Beide Fälle von Kultur der Parasiten, welche in vitro beide Entwicklungscyclen ergaben, beziehen sich auf frische Infektionen mit Plasmodien des Tropenfiebers. Der erste Fall betrifft die Kaufmannsfrau S. T., welche am 25./VII. erkrankt war und sich am 1./VIII. bei mir in der Sprechstunde einstellte, wo ich bei ihr im Blute Ringformen der Parasiten und Gameten der tropischen Malaria feststellen konnte; im zweiten Falle handelt es sich um die Patientin W. N. J., eine Zuhörerin der höheren Frauenkurse zu Kasan, welche am 24./IX. erkrankte und am 3. X. in der Klinik zur Aufnahme kam. Diese Patientin hatte 4 Tage vor der Aufnahme in die Klinik zwei subkutane Chinineinspritzungen zu je 0,5 bekommen. Bei der objektiven Untersuchung erwiesen sich beide Patientinnen als anämisch, die sichtbaren Schleimhäute und die Haut bei ihnen als blaß. Die Fieberattacken zeigten einen klassischen Verlauf mit regulärem Wechsel ihrer Symptome — Schüttelfrost, Fieber, Schweißausbruch. Die Milz war bei beiden Patientinnen mäßig vergrößert und bei der Palpation druckempfindlich. Im Blute der zweiten Patientin fanden sich ebenfalls Ringformen der Schizonten und Gameten. Der klinische Verlauf der Krankheit war bei beiden Patientinnen ein ziemlich schwerer und die Anfälle waren von Schwindel, Übelkeit, Erbrechen und sogar Ohnmachten begleitet. Ich entnahm in beiden Fällen je 20 ccm Blut und stellte meine

Versuche nach den oben beschriebenen technischen Vorschriften und unter Einhaltung der erwähnten Regeln an. Das Wachstum der Parasiten in Kulturen fand bei 41° C statt.

Strichpräparate, welche 5–6 Stunden vor Beginn der Versuche und im Momente dieses Beginnes angefertigt worden waren, erwiesen das Vorhandensein der nämlichen Parasitenarten, welche wir gewöhnlich im Blute von Malarikern vorfinden. In früheren Stunden traf man im Blute noch frei schwimmende Merozoiten an, zu späteren Stunden jedoch (nach 5—6 Stunden, vom Beginn des Versuches an) kamen sie nicht mehr vor, wohl aber fanden sich solche, die an Erythrocyten hafteten oder aber zumeist bereits in die roten Blutkörperchen eingedrungen waren.

Eine Veränderung der Parasiten, welche im peripherischen Blute nicht zu beobachten ist, trat nur in einer 4 stündigen Kultur ein. Diese Veränderung bestand in folgendem: viele Schizonten gewinnen anstatt ihrer regelmäßigen Ringform eine solche, welche stark an das frühe Entwicklungsstadium der Tertianaparasiten erinnert, oder die Ringe nehmen an Dimensionen zu. Ihr Protoplasma wächst auf Kosten einer Bildung von Pseudopodien, welche aus dem verdickten Teile des Ringes hervortreten, an Umfang an. Das Chromatin lagert sich in derartigen Schizonten im verdickten Protoplasmateile oder in selteneren Fällen im Zentrum der Ernährungsvacuole, welche ihren Dimensionen nach beinahe $^1/_3$—$^1/_2$ des ganzen Parasiten gleichkommt und selten an dem entgegengesetzten verdünnten Teile des Protoplasmas gelagert ist. Das Chromatin des Kernes ist kompakt und nimmt dunkelrote Färbung an, zeigt die Form eines runden Klümpchens oder eines in die Länge gezogenen Stäbchens mit zugespitzten Enden oder schließlich einer unregelmäßigen Scholle mit gezackten Rändern. In einigen Parasiten gewahrt man außer dem Hauptkern ein kleines Chromatingebilde, welches augenscheinlich entweder den Blepharoplasten oder das Centrosoma darstellt.

Die Größe dieser Schizonten beträgt 2—3 μ. Sie enthalten ein blaßgelbes, feinkörniges, staubförmiges und im ganzen Protoplasma verstreutes Pigment.

Neben diesen Schizonten kommen in Präparaten Parasitenzellen einer anderen Art, welche im Durchmesser $3^1/_2$—4 μ erreichen, vor. Ihr Protoplasma ist homogener und nimmt intensivere Blaufärbung mit violetter Nuance an. Ihre Nutritionsvacuole erreicht keine bedeutende Größe. Die Kerne der Parasiten besitzen größere Dimensionen und färben sich intensiver dunkelrot als in den oben

beschriebenen Schizonten. Das in diesen Zellen gröbere Pigment besteht aus einem oder mehreren Klümpchen, welche sich vornehmlich in der Nachbarschaft von Kern und Nutritionsvacuolen befinden. Die letzte Art von Parasitenzellen halten wir für die Initialform der Gameten.

In Kulturen der 10. Stunde nehmen die Schizonten bereits $^1/_3$ und sogar $^1/_2$ des Erythrocyten ein (2—3 μ) (Fig. 18—20). In der Mehrzahl der Fälle besitzen sie ein schön hellblau gefärbtes Protoplasma und ein karminrotes Chromatin. Sie enthalten bedeutend mehr Pigment, als wie in der vorhergehenden Stunde. Ihre Form ist eine ziemlich verschiedenartige. Sie stellen sich entweder in Form eines pokalförmigen Streifens oder eines Bogens, dessen eines Ende aus Chromatin und dessen größter Teil aus dem Protoplasma des Parasiten besteht, oder schließlich als formlose Protoplasmamasse mit zahlreichen Ausläufern, welche sich durch den Erythrocyten erstrecken, dar.

Die andere Art der Parasitenzellen hat in 10stündigen Kulturen an Größe verhältnismäßig wenig zugenommen; ihr Protoplasma färbt sich hellblau mit violetter Nuance und ihre Konturen sind scharf umrissen. Der große Kern (3,5—3,6 μ) zeigt entweder runde oder unregelmäßige Form. Ihr Pigment besitzt die Neigung, sich in Häufchen anzusammeln, und dunklere Färbung als wie bei den vorhergehenden Formen von Schizonten. Die Nutritionsvacuolen dieser Zellen sind sehr klein. Von dieser Stunde an wird auch das fleckige Aussehen der Erythrocyten sehr bemerkbar („Maurer'sche“ Flecken) und verändert sich ihre Färbung in merkbarer Weise: sie werden kupfergelb. Andere Erythrocyten hingegen, welche Parasiten enthalten, weisen gleichsam Falten und Spalte, die unter spitzem oder oder geradem Winkel zueinander gelagert sind, auf.

In Kulturen der 13. Stunde haben die Schizonten ziemlich wenig an Dimensionen zugenommen und gleichen auch nicht im entferntesten ihren primären Formen, sondern bieten das Aussehen von Bändern, welche dem einen Rande des Erythrocyten entlang ziehen.

Ihr Chromatin ist dunkelrot gefärbt, kompakt und nicht gelockert und besteht aus einem Klümpchen mit ziemlich scharfen Konturen. Das Protoplasma färbt sich bei den Schizonten ziemlich gut. Ihr fast ganz schwarzes Pigment ballt sich zu einem oder zwei, zuweilen sogar drei Klümpchen von verschiedener Größe, welche an der Peripherie des Parasitenplasmas Platz nehmen, zusammen. Eine andere Art von Zellen, welche wir als Gameten ansehen, zeigt

runde oder ovale Form mit zugespitzten Rändern. Ihr Protoplasma färbt sich ziemlich gut. Ihr schwarzes Pigment ist kompakt und sammelt sich zu einem, selten mehreren ganz runden Klümpchen, welche an der Peripherie des Protoplasmas liegen, an; das ziemlich grobkörnige Chromatin zieht sich als unregelmäßiger Streifen zuweilen von dem einen Rande des Parasiten zum anderen hin. Es ist nicht aufgelockert und nimmt karminrote Färbung an.

In der Kultur der 17. Stunde haben die Schizonten eine Größe von 4—5 μ ($^1/_2$—$^2/_3$ des Durchmessers eines Erythrocyten) erreicht.

Ihr Protoplasma nimmt blaßblaue Färbung an und weist gleichsam gezackte und verschwommene Ränder auf. Die Form des Parasitenprotoplasmas ist eine ziemlich verschiedenartige und sie hängt von der Lage des Parasiten im Erythrocyten ab; befinden sie sich an der Peripherie desselben, so haben sie das Aussehen einer Sichel, welche beinahe $^1/_2$—$^2/_3$ dieser Peripherie einnimmt; zuweilen bilden sie eine formlose Masse, welche sich näher zu dem einen Ende des Parasiten lagert. Die Zellen zweiter Art, welche in Kulturen vorkommen, lagern sich näher zum Zentrum des Erythrocyten und erscheinen als unregelmäßige Halbkreise, welche die größere Hälfte des Erythrocyten einnehmen.

In den Zellen der Schizonten und Macrogameten färbt sich das Chromatin ziemlich intensiv und besteht es aus vereinzelten kleinen Körnchen, kurzen Stäbchen sowie Klümpchen, welche in verschiedenen Richtungen verlängert sind und verschiedene Konturen aufweisen; überhaupt beträgt die Zahl der einzelnen Chromatinklümpchen in einigen Zellen 2, in anderen 4 und in den dritten bis zu 12, jedoch nicht mehr. Ihr Chromatin beginnt sich zu lockern, was auf eine bevorstehende Teilung desselben hindeutet. Außer dem ganz schwarzen und in der Anzahl von 1—3 Klümpchen vertretenen Pigment kommen auch noch feine gelbbraune Körnchen desselben, welche sich neben den ersteren lagern, vor. Die Kernteilung findet nach dem Typus der sukzessiven Zweiteilung statt.

Das Protoplasma offenbart in diesen zwei Arten von Parasiten noch nicht die Tendenz zur Abschnürung vereinzelter Klümpchen, welche der Anzahl der Chromatinkerne entsprechen.

Die Erythrocyten mit „MAURER'schen“ Flecken sind stark entfärbt. Außerdem kommen auch parasitenlose Erythrocyten mit MAURER'schen Flecken vor; letzterer Verfasser erklärt diesen Befund durch intercelluläre Lagerung der Parasiten. Außer diesen veränderten roten Blutkörperchen kommen in Kulturen Gebilde von ziemlich großen Dimensionen, welche im Durchmesser 18—20 μ

erreichen und gleichsam das zurückgebliebene Erythrocytenstroma darstellen, vor. Diese Gebilde erinnern in ihrer Größe und den eigenartigen Umrissen der einen ihrer Seiten an die von Schilling-Torgau beschriebenen Zellen. Im Zentrum dieser Gebilde sieht man gleichsam Überbleibsel von Pigment, Chromatin und einer geringen Menge blaßblauen Protoplasmas. Früher konnten sie weder im Blute von Kranken noch in Kulturproben gefunden werden, und augenscheinlich ist ihre Entwicklung mit der Wucherung von Parasiten in Zusammenhang zu bringen.

Schließlich sehen wir in Präparaten dieser Stunde Entwicklung kleiner Gameten, welche sich im Zentrum entfärbter Erythrocyten befinden und gleichsam mit einer besonderen Kappe oder Membran von dunkelroter Farbe umgeben sind. Ihre Länge beträgt 4—5 μ, ihre Breite 2—3 μ. Ihr Protoplasma zeigt hyalinen Bau mit scharfen Rändern und nimmt stärker an der Peripherie als im Zentrum violettblaue Färbung an. Das Chromatin ist im Zentrum kompakt und mit einer ausgiebigen Menge schwarzer Pigmentkörnchen umgeben. Welche Lebensbedingungen der Parasiten dazu geführt haben, daß die einen Geschlechtszellen den Weg der Schizogonie betreten, während die anderen zur Erhaltung der Art ihr Wachstum fortsetzen, können wir fürs erste nicht feststellen.

In der Kultur der 21. Stunde haben die Schizonten im Vergleich zu den vorhergehenden Stunden wenig an Dimensionen zugenommen, andererseits jedoch weist ihr Protoplasma den Beginn der Abschnürung vereinzelter Klümpchen zur bevorstehenden Merozoitenbildung auf.

Das Chromatin hat sich in den Macrogameten ebenso wie in den Schizonten in einzelne Klümpchen geteilt, welche, anstatt unregelmäßiger, eine mehr runde Form und dunkle Färbung bekommen.

Die vereinzelten Gameten in Kulturen dieser Stunde werden gleichfalls etwas größer als wie diejenigen der vorhergehenden Stunden. Man sieht, wie sie sich von dem Erythrocyten oder aus ihrer eigenen Hülle, deren Überbleibsel sie als unregelmäßige Fetzen von verschiedener Größe und Gestalt mit sich tragen, loslösen. Ihre Länge erreicht 5—7 μ, ihre Breite 3—4 μ.

In der Kultur der 24. Stunde haben die Schizonten eine Größe von 4—5 μ ($^2/_3$ des Erythrocyten) erreicht. In einigen Schizonten hat sich der Kern in vereinzelte Nucleoli aufgelöst, welche sich über das ganze Parasitenprotoplasma verteilt haben. Sie werden kompakt und erhalten eine dunkelviolette Färbung, in ihrer Nähe kann man Bildung von zukünftigen Nutritionsvacuolen beobachten.

Das kompakte schwarze Pigment besteht aus vereinzelten Klümpchen, welche im Durchmesser $^1/_2$—1 μ erreichen.

In Macrogameten, welche desgleichen zur Merulation des Protoplasmas geschritten sind, erscheint das Protoplasma meist homogen, hyalin und zeigt es noch keine Tendenz zur Teilung, obgleich die in demselben enthaltenen Kerne durchaus isoliert sind.

In der Kultur sieht man fortgesetztes Wachstum der männlichen sowie der weiblichen Gameten von 6 bis zu 10 μ Länge und Auswanderung derselben aus den Erythrocyten.

In Strichpräparaten aus der Kultur der 25. Stunde kommen bereits frei schwimmende Merozoiten, welche sich von den Merulationsmutterzellen losgelöst haben und in die Erythrocyten noch nicht eingewandert sind, vor. Den Prozeß der Zerstreuung von Merozoiten in gefärbten Präparaten konnten wir in keinem der 7 Fälle von Züchtung beobachten, und dieser Prozeß geht augenscheinlich ziemlich rasch vor sich, wie auch Ziemann erwähnt. Die Merozoiten sind klein und erreichen kaum 2 μ im Durchmesser, einige von ihnen sogar noch weniger. Ihr Protoplasma färbt sich ziemlich gut in einer hellblauen Nuance. Das grobkörnige Chromatin bezieht sich zum Protoplasma wie 1 : 1 : 1$^1/_2$ und färbt sich karminviolett. Außer freien Merozoiten, welche außerhalb der roten Blutkörperchen liegen, kommen auch bereits in Erythrocyten eingewanderte vor. In derartigen jungen Merozoiten oder richtiger Schizonten beobachtet man bereits eine deutlich ausgeprägte Nutritionsvacuole und die Tendenz des Protoplasmas, Ringe zu bilden. Außerdem gewahrt man in ihnen Pigmentbildung in Form von fein staubartigen, gelbbraunen Körnchen, welche entweder in der Nachbarschaft des Kernes oder in dem ringförmigen verdickten Teile des Protoplasmas zu liegen kommen. Ebenso kann man wiederholte Infektion ein und desselben Blutkörperchens mit Parasiten beobachten.

In Kulturen dieser Stunde sieht man Bildung und Entwicklung der ovalen Formen von Gameten und eine große Menge bereits freigewordener halbmondförmiger Geschlechtszellen oder solche, die noch mit Überbleibseln von Erythrocyten in Verbindung stehen. Sie beginnen sich zu männlichen und weiblichen Individuen zu differenzieren, in früheren Stunden jedoch konnte man nicht unterscheiden, zu welchem Geschlechte sie gehören. Viele von ihnen sind gleichsam mit einem karminroten Saume, augenscheinlich ihrer eigenen Hülle, welche gegen Eintritt der Geschlechtsreife verschwindet, umgeben. In der Kultur der 27. Stunde nimmt die Gametenbildung ihr Ende und beginnt die Neubildung von Geschlechtsformen der Parasiten,

welche in vitro aus den schizogonen Formen der vorhergehenden Stunden entstehen. Auf diese Weise haben wir es also hier mit zwei Gametenarten zu tun: mit Gameten des neuen Entwicklungscyclus und mit der Fortsetzung ihrer Entwicklung aus Schizonten, welche dem Blute von Kranken entnommen worden waren. Die jüngsten Exemplare von Gameten sind etwas größer als wie die kleinen Ringe des schizogonen Initialstadiums der Parasiten. Die Größe der Gameten aber, welche sich aus dem Blutparasiten von Patienten entwickelt haben, beträgt 10—14 μ. Sie kommen entweder freischwimmend oder in Erythrocyten, in denen sie noch ziemlich zugespitzte Enden aufweisen, vor. Die Enden werden zu Beginn der Reifungsperiode abgerundet.

Außerdem beobachtet man in Kulturen der 27. Stunde den Beginn der Gametencopulation.

An den Macrogameten bildet sich die Copulationsprominenz und in den Microgameten hat bereits die Lockerung des Chromatins begonnen, und letzteres hat sich zwecks Bildung von Geißeln an der Peripherie der Zelle gelagert. Die Microgametocyten nehmen vor Beginn der Entwicklung von Microgameten statt ihrer halbmondförmigen eine runde Gestalt an.

Außer diesen Parasitenzellen kommen auch ovale Gametocyten mit stumpfen Enden, welche 6—8 μ lang und 3—4 μ breit sind, vor. Ihr Protoplasma nimmt blauviolette Färbung an, und zwar ist diese an den Enden intensiver als im Zentrum, wo sich das Kernchromatin, welches beinahe $^1/_3$—$^1/_4$ des Parasitenprotoplasmas einnimmt, befindet.

Der Kern ist mit zahlreichen kleinen Partikelchen schwarzbraunen Pigmentes umgeben. In Kulturen dieser Stunde tritt auch die Copulation ein; leider konnten wir jedoch an gefärbten Präparaten keine Geißelbildung beobachten, sondern nur eine Vereinigung beider Kerne, des männlichen und des weiblichen, konstatieren.

In ein und denselben Präparaten gewahrt man gleichfalls vereinzelte und verspätete Formen merulierender Parasiten und den Beginn der Bildung von Ookineten. Der befruchtete Körper sendet Ausläufer aus, verlängert sich und nimmt alle möglichen Formen an. In den meisten Fällen besitzen die Ookineten unregelmäßig ovale Form mit verlängerten und leicht zugespitzten Enden, einige aber zeigen bei ovaler Grundform Protoplasmaausläufer in Form von stumpfen Nägeln, deren Anzahl 1—2, selten 3 beträgt, oder schließlich ragt über ihren Körper ein langer, scharfer Protoplasmaausläufer hervor. Sie nehmen hellblauviolette Färbung an und

liegen fast stets im Plasma der Kultur und nur selten an einem Erythrocyten. Ihr Chromatin lagert sich stets exzentrisch und häufig in irgendeiner Ausbuchtung des Protoplasmas, selten im Zentrum. Es besteht aus einem kompakten zentralen und einem lockeren peripherischen Teile, welche beide dunkel karminrote Färbung annehmen.

Das in ihnen in Form von kleinen schwarzbraunen Körnchen enthaltene Pigment lagert sich entweder lateralwärts vom Kerne oder es umgibt letzteren von 3—4 Seiten, und selten liegt es, augenscheinlich in den Initialstadien ihrer Entwicklung, abseits vom Parasitenkerne.

Schließlich beobachtet man in Kulturen kleine Ringformen der Parasiten mit 1—2, sogar 3 Chromatinklümpchen, junge Schizonten und vereinzelte, verspätete Formen der in Teilung begriffenen Parasiten.

In Präparaten der Kultur der 30. Stunde gewahren wir eine Wiederholung des Entwicklungscyclus von Schizonten, und das Aussehen der Parasiten erinnert hier vollständig an die 10.—13. Stunde, abgesehen von der fortbestehenden Ookinetenbildung und Oocystenentwicklung.

Die Ookineten stoßen, indem sie sich zu wiederholten Malen kontrahieren, einen Teil des Pigmentes aus, während ihr Chromatin und Protoplasma sich kontrahiert. Ihre unregelmäßige Form verändert sich zu einer runden, ihre Färbung aber zu einer dunkelroten. Nach ihrer Kontraktion erscheinen sie als kleine Klümpchen, welche aus Chromatin, Protoplasma und Pigment bestehen. Diese Gebilde befinden sich bereits innerhalb der Erythrocyten und besitzen eine eigene Hülle. Letztere ist dunkelrot gefärbt und weist blasse, verschwommene Konturen an der Peripherie, welche ohne scharfe Grenzen in dem Erythrocyten verlaufen, auf. Die Größe dieser Gebilde beträgt 2—3 μ im Durchmesser.

In Kulturen der 36. Stunde haben die Oocysten bereits die Größe eines halben Erythrocytendurchmessers erreicht. Sie befinden sich in noch nicht zerstörten, aber stark entfärbten roten Blutkörperchen. In Zylindern haben sich also die Oocysten infolge gewisser Ursachen innerhalb der Erythrocyten entwickelt, während sie sich gewöhnlich in den Magenwandungen der Anophelesmücke heranbilden.

Gegenwärtig ist es nicht nur wahrscheinlich, sondern man kann sogar mit Gewißheit behaupten, daß alle klinisch schwer verlaufenden Malariafälle, welche schwer einer spezifischen Behandlung weichen und einen langwierigen Verlauf nehmen, nichts anderes

darstellen, als wie die Entwicklung beider Parasitencysten im Blute des Kranken, und daß die Hypothese Glogner's von der Copulation der Gameten im Organismus durchaus nicht bodenlos ist, sondern daß sie ein unumstößliches Faktum darstellt.

Die Schizonten degenerieren gleichsam in der 36stündigen Kultur und weisen ziemlich phantastische Formen auf; sie bestehen aus 1—2, zuweilen sogar 3 Chromatinkernen und einem stark verzweigten Protoplasma und sind im ganzen Erythrocyten zerstreut.

In der 40. Stunde weisen die Oocysten verschiedene Größe auf und neben den Anfangsformen ihrer Entwicklung kommen auch vollkommen entwickelte und sogar geborstene Formen vor. Die besser entwickelten, jedoch noch nicht vollständig reifen Oocysten erscheinen als ovale, 4—6 μ lange und 3—4 μ breite Gebilde. Sie weisen karminrote, an den Rändern dunklere, im Zentrum helle Färbung auf. In jungen Oocysten ist das Pigment im Zentrum angehäuft, in den weiter entwickelten aber zieht er sich als Streifen, welcher die Oocyste durchquert, hin. Die Überbleibsel des Chromatinkernes sind aufgelockert und mit Pigmentkörnchen vermengt.

Sie kommen auch noch in Erythrocyten vor, wo sie mit einer schleimigen Kapsel umgeben sind; einige aber sind im Begriffe, den Erythrocyten zu verlassen. In dieser Stunde sieht man in Kulturen, ebenso wie in der 27. Stunde, Gebilde, welche eine sehr entfernte Ähnlichkeit mit den Körpern von Cabot-Schleipa besitzen; über ihre wahre Natur können wir uns mit Bestimmtheit nicht äußern, wahrscheinlich sind dieses Erythrocytenhüllen, welche von Parasiten verlassen worden sind.

Reife Oocysten erreichen eine Größe von 7—8 μ und ihre Form ist in den meisten Fällen eine ovale oder runde.

Ihre Oberfläche weist in den verschiedensten Richtungen blaß rosenrote Streifen auf, eine Andeutung zukünftiger Berstungen.

Reifere Formen nehmen blaßrote Färbung an und liegen frei außerhalb der Erythrocyten, wobei sie im Durchmesser bis zu 9—10 μ erreichen.

Außerdem finden sich in Kulturen dieser Stunde auch viele andere Gebilde, welche ihrer Größe nach an Erythrocyten erinnern, nur ist ihre Färbung eine rosenrote mit violetter Nuance. An ihrer Oberfläche tragen sie kleine höckerige Prominenzen nach Art derjenigen, welche in einigen geborstenen oder richtiger zerquetschten Oocysten zu sehen sind. Derartige dunkler gefärbte Prominenzen sehen wir als Herde zukünftiger Sporozoiten an.

In diesen Gebilden sieht man eine geringe Menge von Pigmentkörnern, den Beginn der Chromatinbildung von Sporozoiten und ein Häufchen von Protoplasmaüberresten, welche hellblaue Färbung annehmen.

In der Kultur der 43. Stunde kann man bereits eine kolossale Sporozoitenmenge konstatieren, und viele von ihnen sind schon in rote Blutkörperchen eingewandert.

Außerdem gewahrt man noch zahlreiche leere und noch nicht vollständig entwickelte Oocysten.

Die Berstung der Oocysten findet augenscheinlich ziemlich rasch statt, denn in Präparaten sieht man nur selten Sporozoiten neben einer Oocyste; möglicherweise werden sie auch bei Anfertigung von Strichpräparaten zerquetscht. In einzelnen Präparaten sieht man die Oocyste verlassende Sporozoiten, sowie solche, die sich noch nicht voneinander losgelöst haben, sondern durch die schleimige Masse der Überbleibsel des Oocystenkörpers miteinander verbunden sind.

Die noch nicht voneinander getrennten Sporozoiten liegen mehrere zusammen in Reihen da und bieten das nämliche Bild dar, wie es bei Auswanderung derselben aus den Oocysten des Mückenmagens zu beobachten ist.

Weiter beobachtet man in Präparaten dieser Stunde eine fortlaufende Entwicklung anderer Formen der Parasiten und den Beginn der Schizogonie ihrer zweiten Generation.

In der 48stündigen Kultur sehen wir eine Fortsetzung der Sporozoitenbildung und ihre Invasion in Erythrocyten. Letztere findet in derselben Weise statt, wie das Schaudinn beobachtet hat. Schließlich beobachtet man Veränderungen der im Plasma der Kultur freiliegenden Sporozoiten, welche nicht in rote Blutkörperchen eingewandert sind.

In Präparaten derselben Stunde gewahrt man auch Merulation von Schizonten und Makrogameten, sowie Entwicklung der eingewanderten Sporozoiten.

Die Sporozoiten sind klein, erreichen kaum eine Länge von $2-2\,^1/_2\ \mu$ und eine Breite von ca. $^3/_4\ \mu$. Sie sind sichelförmig oder, wenn sie in ihrer Entwicklung zurückstehen, — rund. Ihre Kerne besitzen runde oder ovale Form und nehmen dunkel karminrote Färbung an, ihr Protoplasma färbt sich ziemlich intensiv blau.

Die Parasiten lebten in Kulturen 132 Stunden ($5\,^1/_2$ Tage). Die Kultur der 132. Stunde entspricht dem Beginn der 5. Generation, wenn man die Dauer einer solchen auf 27 Stunden feststellt; wir

sahen nur 3 Parasiten, von denen 1 eine merulierende Form betrifft, während 2 schwach ausgeprägte und gefärbte Ringformen darstellen.

Hierbei muß hervorgehoben werden, daß sie bei längerem Aufenthalte in vitro entweder degenerieren, indem sie an Größe abnehmen und ihre regelmäßige Form einbüßen, oder aber zugrunde gehen und einem lytischen Prozesse anheimfallen.

Von den Hauptentwicklungsphasen der Parasiten des tropischen Fiebers möchte ich also folgende vermerken.

1. Die Entwicklung der Parasiten in vitro bei 41° C mit Pigmentbildung in ihrem Protoplasma beginnt in der 4. Stunde.

2. Zwischen der 17. und 24. Stunde kann man die Schizogonie der Parasiten beobachten (in seltenen Fällen kommt sie auch in der 27. Stunde vor).

3. Die Gametenbildung beginnt in der 17. Stunde und dauert bis zur 27. Stunde fort.

4. Die Ookinetenbildung beginnt in der 27. Stunde. In seltenen Fällen kann dieser Prozeß auch früher beobachtet werden.

5. In der 30. Stunde bilden sich Sporocysten; dieses findet in roten Blutkörperchen, welche den Sporocysten augenscheinlich die Wandungen des Mückenmagens ersetzen, statt.

6. In der 40. Stunde sind Berstung der Sporocysten sowie Entleerung der Sporozoitenmasse zu beobachten.

7. In der 43. Stunde nimmt dieser Prozeß sein Ende und findet Invasion von Sporozoiten in rote Blutkörperchen statt.

Der gesamte Entwicklungsprozeß der Parasiten des tropischen Fiebers dauert in vitro 43 Stunden, wobei ich auch diejenige Rasse, welche von den übrigen, diese Frage behandelnden Autoren nicht bemerkt und beschrieben worden war, verfolgen konnte.

Überimpfungen wurden zweimal vorgenommen: einmal in der 24. Stunde der Kultur, im Momente, wo sich die Parasiten ausgiebig teilten, das andere Mal aus der 1. Überimpfung in der 30. Stunde, als die freischwimmenden Merozoiten bereits in Erythrocyten eingewandert waren.

In der 1. Überimpfung konnte die Entwicklung von Sporozoiten in der 19. Stunde vom Momente der Überimpfung an oder in der 43. Stunde vom Beginne des Versuches an beobachtet werden.

In der 2. fand der nämliche Prozeß in der 12. Stunde vom Momente der Überimpfung und in der 66. Stunde vom Beginne des Versuches an statt. Die Überimpfungen ergaben einen identischen Entwicklungscyclus der Parasiten. In der 1. Überimpfung lebten die Parasiten 101 Stunde, in der 2. 73 Stunden.

Neben der Teilung von Schizonten beobachtet man in Kulturen auch Teilung von Macrogameten, jungen weiblichen Sichelformen.

Die Entwicklung von Sporozoiten aus Gameten ist, wie das Plehn, Maurer und Schaudinn angeben, möglich, jedoch konnten wir den betreffenden Entwicklungscyclus nicht mit Genauigkeit verfolgen, weil die intermediären Entwicklungsphasen der Parasiten nicht genügend klar erschienen.

Die klinisch schwer verlaufenden Formen von tropischer Malaria und diejenigen, welche einer Antimalariatherapie lange widerstehen, werden mit großer Wahrscheinlichkeit durch die Entwicklung beider Entwicklungscyclen der Parasiten im Blute des Patienten hervorgerufen.

Die Anwesenheit von Gebilden, welche an die Körperchen von Cabot-Schleipa und Schilling-Torgau erinnern, im Blute von Malariakranken, steht unserer Meinung nach in engem Zusammenhange mit Protozoenerkrankungen und im speziellen mit der Malaria; möglicherweise stehen dieselben in bezug zu der Parasitensporogonie im menschlichen Organismus.

Indem ich hiermit meine Veröffentlichung beschließe, erlaube ich mir, dem hochverehrten Direktor der Klinik, Herrn Prof. A. N. Kasem-Bek, welcher liebenswürdigst meine Präparate durchgesehen und mir das zu der mich interessierenden Frage gehörige klinische Material zur Verfügung gestellt hat, meinen aufrichtigsten und herzlichsten Dank zu sagen.

Ebenso bin ich dem Assistenten der Klinik, Herrn Dr. M. N. Tscheboksarow, und dem Laboranten derselben, Herrn Dr. J. K. Gorjajew, für die Kontrolle meiner Arbeit und für die Prüfung der von mir nach Präparaten angefertigten Zeichnungen zu Dank schuldig.

Auch Herrn Dr. W. L. Yakimoff, meinem hochverehrten Lehrer und Leiter in protozoologischen Studien, bringe ich für seine schätzbaren technischen Hinweise an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank.

Schließlich will ich auch all meiner Laboratoriumskollegen, welche mich bei meiner Arbeit in verschiedenster Weise unterstützt haben, dankend erwähnen.

Literaturverzeichnis.

1) Ziemann, H.: Über die Bass'sche Kultur der Malariaparasiten in vitro und die daraus sich ergebenden Resultate. Centralbl. f. Bakt. Bd. 67 H. 6 1911.
2) —: Über die Kultur der Malariaparasiten und der Piroplasmen (Piroplasma canis) in vitro. Bull. de l'Inst. Pasteur No. 19 1913.
3) —: Malaria. Handb. d. Tropenkrankh. Teil 3 1906.
4) —: Über Malaria- und andere Blutparasiten. Jena (G. Fischer) 1898.
5) Laveran: Acad. de méd. 23./XI. et XII. 1770. Traité du paludisme 1898 et 1911.
6) Olpp: Münch. med. Wochenschr. Nr. 48 1912.
7) Tomson, John Gordon: G. W. Mc Lellam. The cultivation of one generation of malarial parasites (Pl. falciparum) in vitro by Bass methode. Ann. of tropical med. and parasit. Vol. 6 No. 3 17./X. 1912.
8) Swellengrebel, N. H.: Schizogonie der weiblichen Gametocyten von Laverania malariae (Tropicaparasit.). Centralbl. f. Bakt. (Orig.) Bd. 70 H. 3/4 1913.
9) Da Rocha Lima, H., et Werner: Über die Züchtung von Malariaparasiten nach der Methode von Bass. Bull. de l'Inst. Pasteur No. 19 1913.
10) Billet, A.: Hématozoaires du paludisme. Ibid.
11) Graal et Marchoux: Traité de Pathologie exotique. Le Paludisme. 1910/11. Parapaludisme.
12) Celli: Die Malaria nach den neuesten Untersuchungen. Hämosporidien der Menschen. 1912
13) Gurko, A. u. J. Hamburger: Zur Frage von der Kultur der Malariaplasmodien nach der Methode von Bass u. Jons. Med. Obosrenije 1913 No. 4 (russisch).
14) Joukow, N.: Über die Kultur des Malariaparasiten. Ibid. No. 2 (russisch).
15) Luhe, M.: Die im Blute schmarotzenden Protozoen und ihre nächsten Verwandten. Handb. d. Tropenkrankh. Teil 3.
16) Schaube, B.: Die Krankheiten der warmen Länder. 4. Aufl. Jena (G. Fischer) 1910.
17) Argutinsky: Zur Kenntnis der Tropicaparasiten (Plasmod. praecox) Gr. et Fel.
18) Maurer: Malaria perniciosa. Centralbl. f. Bakt. Bd. 32 1902 Nr. 10.
19) Kubassow: Über die Pilze des Paludismus. 1895. Dissert. (Russisch.)
20) Ruge: Malariaparasiten. Handb. d. Pathologie d. Microorganismen Bd. 1 1913.
21) Kolle u. Hetsch: Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten. 1908.
22) Coronado: Reproduction del hematograrío di Laveran. Chron. med. chir. d. Habano No. 22 1892.
23) Marzinowsky: Microbiologie. Bd. 2 (russisch).
24) Sacharoff: Über den Einfluß der Kälte auf die Lebensfähigkeit der Malariaparasiten. Centralbl. f. Bakt. Bd. 15 No. 5—6.
25) Hartmann, M.: Das System der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 10 1907.
26) Doflein: Das System der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 1 1902.
27) v. Prowazek: Handb. d. pathogenen Protozoen 1—6 1912.
28) Bignami: Recherche sulle anatomia pathologica delle perniciosa. Atti di as. med. di Roma 1890—91.
29) —: Russkij Wratsch. 1912 No. 49 (russisch).
30) Schilling-Torgau, V.: Das Blutbild und seine klinische Verwertung. Jena (G. Fischer) 1912.

Tafelerklärung.

Tafel 13.

Fig. 1—12. Schizonten im peripherischen Blut des Kranken.
Fig. 13—17. Schizonten in einer Kultur von 4 Stunden.
Fig. 18—20. Schizonten in einer Kultur von 10 und 13 Stunden.
Fig. 20—21. Schizonten in einer Kultur von 17 Stunden.
Fig. 22—26. Schizonten in einer Kultur von 21—24 Stunden.
Fig. 27—32. Merozoiten und Schizonten in einer Kultur von 24 und 27 Stunden.
Fig. 33—49. Schizogonie der Macrogametocyten.
Fig. 33—38. Junge Formen der Macrogametocyten.
Fig. 39—45. Der Ursprung und die beginnende Teilung des Chromatinkernes der Macrogametocyten.
Fig. 46—47. Ausgebildete einzelne Chromatinkerne.
Fig. 40. Das Auseinandergeben der Merozoiten.

Tafel 14.

Fig. 41—49. Das Auseinandergehen der Merozoiten.
Fig. 50—65. Die Bildung der Gametocyten (in einer Kultur von 17 bis 27 Stunden).
Fig. 58—65. Das Hervortreten der Gametocyten aus den Erythrocyten.
Fig. 61. Macrogametocyt.
Fig. 62—63. Halbmondförmige Gametocyten.
Fig. 64. Microgametocyt.
Fig. 66. Die Auflockerung des Chromatins in einzelne Kerne im Microgametocyten.
Fig. 67. Microgametocyt vor dem Anfang der Bildung der Microgameten.
Fig. 68. Microgametocyt von dem Anfang der Copulation.
Fig. 69—70. Die Verschmelzung der Kerne nach der Copulation.
Fig. 71—80. Die Bildung der Ookineten.

Tafel 15.

Fig. 81—84. Die Bildung der Sporocysten.
Fig. 85—93. Die Formen der Sporocysten.
Fig. 91. Sporocyste mit noch ausgebildeten Sporozoiten.
Fig. 92. Der Anfang der Bildung der Sporozoiten.
Fig. 93. Die leere Sporocyste.
Fig. 94. Das Platzen und das Hervortreten der Sporozoiten ins Freie.
Fig. 95. Sporozoiten mit einem Restkörper der Sporocyste.
Fig. 96—108. Die freien Sporozoiten in der Kultur.
Fig. 98. Das Eindringen der Sporozoiten in die Erythrocyten.
Fig. 99—107. Die Entwicklung der in die Erythrocyten eingedrungenen Sporozoiten.
Fig. 109—112. Die Arten der veränderten Schizonten in der Kultur.
Fig. 114—116. Die Arten, die in späten Stunden in der Kultur der Erythrocyten angetroffen werden.

Studies in the Life history of an Amoeba of the Limax group.

Vahlkampfia calkensi.

By
Mary J. Hogue.

(With Plates 16—18.)

Introduction.

While working at Columbia University in 1911 Prof. Calkins suggested to me that I make a study of the protozoan parasites of the oyster. As I began examining the New York oysters I soon found that many of them were infected with an amoeba which I have named *Vahlkampfia calkensi* (nov. spec.). I wish here to express my gratitude to Prof. Calkins for his many helpful suggestions and criticisms.

Most of the oysters found around New York are infected with the amoeba. The Cape Cod oysters and those found near Woods Hole are peculiarly free from them. It is interesting to note that among the oysters infected, the degree of infection varies: some having many amoebae, while others have very few.

The amoebae on which this work is based were first taken from the digestive tract of an oyster found on a tramp steamer at Woods Hole, Mass. in July 1912. When one removes the contents of the stomach or intestine of an infected oyster and studies them with sterile sea water under a compound microscope, one finds masses of balls, closely packed together. These are amoebae and

in a few minutes from their outer edges come clear thread-like processes, the pseudopodia. They quickly spread out over the slide until one has a field thickly covered with elongated amoebae.

The amoebae look very much like the blood corpuscles found in the gills of the oyster. Indeed it is only after staining that one can distinguish them by their nuclear condition. Furthermore the corpuscles will not grow on agar plates, while the amoebae grow there and reproduce rapidly.

Parts of the digestive tract of several oysters were fixed in FLEMMING, sectioned, and stained but in no case did I find amoebae in the cells or between them. The amoebae seem to live only in the liquid content of the alimentary canal.

Culture media.

At first the amoebae were grown on 1,5 per cent agar-agar made up with either sea water or 0,7 per cent NaCl solution. Both gave equally good results. The amoebae divided rapidly and spread over the petri dishes as far as the bacteria on which they live had grown. Later as the amoebae became small from their rapid divisions oyster broth was added to the agar-normal-salt media. This seemed to improve their condition for they increased in size. Sometimes this normal-salt-agar medium was cleared with the white of egg. Here as WHERRY (1913) points out, the amoebae wander out far beyond the edges of the bacterial growth and are found spread out in rich culture over the whole petri dish before the bacteria have covered a fourth of it. This same medium was also made up with 0,4 per cent WITTE's peptone. Here again the amoebae flourished.

A pure line grown on 1,5 agar normal salt media, which, after it was isolated, divided exceedingly rapidly until the amobae were very minute, was transplanted onto a 1,5 agar normal salt medium to which ova mucoid and a little of the yolk of a hens egg had been added. On this medium they immediately grew to the normal size and spread over the plate.

The amoebae will also live on depression slides. I kept some this way for three weeks, feeding them daily with sterile oyster broth. At the end of that time they were still in vigorous condition and had divided. Unfortunately I had to destroy them, as I was leaving Woods Hole.

These cultures, started in July 1912 are still going. The amoebae were studied in petri dishes with low magnification and

in hanging drops of sterile sea-water or sterile oyster broth. On the inverted petri-dishes I could watch the normal movement and frequently followed division.

Technique.

Smear preparations were made for the study of nuclear structure. The amoebae were transferred by means of a platinum loop from the culture dish to a drop of sterile sea water or normal salt solution. These slides were sometimes placed in a moist chamber so as to let the amoebae have time to assume their normal shape before killing. At other times they were killed at once, being first allowed to stand in the air a few minutes until the liquid had thickened a little. This prevented the loss of many which would otherwise have been washed away. Both slide and cover glass preparations were made.

For killing I used SCHAUDINN's fluid, FLEMMING strong, and sublimate acetic (made up with one or fine per cent acetic acid) for ten to twenty minutes. All were good but the sublimate acetic gave the best results.

Most of the slides were stained in HEIDENHAIN's 0,5 per cent iron haematoxylin for 24—48 hours. Sometimes I used orange G and magenta as counter stains. Safranin and lichtgrün gave excellent results. BORREL, GIEMSA, polychrom methylene blue and HOYER's picro carmine were all tried but did not give very helpful results.

The vital stains, new methylene blue GG, new methylene blue R, and diamond fuchsin confirmed the results obtained in the fixed material.

Trophozoites.

Vahlkampfia calkensi is a small amoeba which when freshly taken from the digestive tract of the oyster measures from 10—30 microns in length. After it has been grown on agar plates it increases in size until one frequently finds amoebae 45 microns long. The average length of fifty cultivated amoebae was 26,3 microns, while the average length of fifty amoebae taken fresh from the oyster was only 15 microns. After the amoebae have become very thick in the culture dish they decrease in size and become irregularly elongated.

The forward part of the moving amoeba is a large ectoplasmic pseudopodium (Fig. 2, 3, 5) which is often branched like a stag's horn. The posterior part is slightly elongated, through frequently it is extended to form many small fine ectoplasmic pseudopodia (Fig. 1). The ectoplasm and endoplasm are quite distinct. The fact that the ectoplasm is almost entirely in the anterior region of the body makes it an easy matter to distinguish the anterior from the posterior end. The endoplasm of amoebae newly taken from the oyster is full of large refractive granules. These disappear after the amoebae have been grown on agar.

When one stains the amoebae with new methylene blue GG and new methylene blue R one can readily see large spherules in the endoplasm which give it the appearance of a foam structure. Between these large spherules, which differ in size, are small granules which also take the vital stain. These observations coincide with those made by Kite (1913) on *Amoeba proteus.*

No contractile vacuole was found in the amoebae taken directly from the digestive tract of the oyster, nor in those cultivated on agar made up with sea-water or with normal salt solution, as was to be expected with marine protozoa. But in some experiments in which the amoebae were grown on 1,5 per cent agar made up with distilled water and also with tap water, a contractile vacuole appeared and contracted quite regularly, in one case about every forty four seconds, in another case about every sixty five seconds.

The nucleus.

The nucleus when intact can easily be seen in the living animal. It appears as a clear round or oval space in the middle or posterior part of the amoeba and always in the endoplasm. In stained preparations the nucleus consists of a large karyosome surrounded by a clear, lightly staining zone, darker at its outer edge but free from chromatin granules (Figs. 1, 2, 4, 8). With safranin and lichtgrün the karyosome is red and the surrounding area a light green. The karyosome is of varied form (Fig. 4) mostly round, though when the amoeba is much elongated, the karyosome stretches out too (Fig. 3). This is not the beginning of division for then, as will be shown later, the nucleus always bends up in a u shape and separates into two parts. Furthermore nuclear division is complete before protoplasmic division begins.

Division.

The nucleus divides by amitosis and promitosis. Figs. 5, 6, 7 show the karyosome dividing by amitosis. The karyosomes in Fig. 5 and 6 did not take a dark stain. The chromatin is massed around the outer edge. This may be due to the degree of differentiation in the staining process, the outer edge retaining the stain longer. The division is most often unequal. The two parts of the karyosome always bend up in a u shape. The connecting thread then breaks and the resulting two karyosomes are side by side (Fig. 4, 8) and of similar or dissimilar shape, depending on how equal the division has been. Later they both round up to form the nuclei of the new individual.

When the amoeba divides by promitosis the clear area forms the spindle. At first it is massed to one side of the karyosome as a crescent (Fig. 9). Then it elongates to form a spindle and the karyosome spreads out on it as the equatorial plate (Fig. 10). In Fig. 11 definite strands of chromatin material are seen in the equatorial plate. These next divide into two parts (Fig. 12) and move to the ends of the spindle (Fig. 13, 21). The spindle then breaks up and forms the clear areas surrounding each new karyosome. The mitotic divisions were not so frequent as the amitotic which were very abundant in rich cultures. The later stages of division are seen in Fig. 15 and 17.

A structure closely resembling a centriole was found in a few amoebae (Fig. 9, 15, 16). It may be, as GLÄSER (1912) suggests, only a part of the karyosome which retains the stain longer.

Multinucleated amoebae.

When there was much amitotic division I found many multinucleated forms (Fig. 1, 18). These amoebae at the time of division form only two daughter amoebae (Fig. 19, 20). A few multinucleated amoebae were found with one nucleus in the process of promitosis (Fig. 14).

Exogenous buds.

Quite a few amoebae were found in which the chromatin as chromatin granules had passed from the karyosome out into the cytoplasm, leaving the nucleus a clear round structure (n. Fig. 22, 23).

The chromatin granules can be seen streaming out to the ectoplasm, where they collect to form the nuclei of exogenous buds. Both fig. 22 and fig. 23 show seven buds in the process of formation. These buds are cut off while the chromatin is still in this condition (Fig. 24). One frequently finds small amoebae (Fig. 26, 27) with chromatin granules near the large amoebae which are forming these buds.

I found a few small amoebae which had processes similar to the buds, but without chromatin (Fig. 25). It is possible that the chromatin was so much fragmented that it did not take the haematoxylin stain, as small amoebae without visible chromatin were found on these slides which were made from old cultures.

Endogenous buds.

Endogenous buds were also found. They were most abundant in agar-normal-salt cultures made up with oyster broth. Fig. 28 shows two endogenous buds each with two nuclei, completely formed and another forming. These buds seem to form from the endoplasm in the middle of the body and to work their way out to the ectoplasm which they then break through (Fig. 30, 31, 33). Endogenous buds are usually formed in multinucleated amoebae. Fig. 29 shows one endogenous bud and a nucleus dividing by amitosis.

On many slides in the large and small amoebae, though most frequently in the former, I found large darkly staining granules, similar to those described by Wherry (1913). As many as 100 were counted in a single large amoeba (Fig. 36). When they are not so numerous (Fig. 32) they are seen to be near the nucleus. As they increase in number they are found in all parts of the amoeba. They are larger than the bacteria on which the amoebae feed and from their proximity to the nucleus one can only suspect that they have their origin from it and are a form of chromidia. Fig. 36 shows one being cut off from the nucleus. When you compare Fig. 36 with Figs. 4, 5, 39, 40 where the bacteria are clearly seen enclosed in vacuoles, you can easily see from the size and shape that these spherules are not bacteria. In some amoebae the bacteria are arranged in groups of four, five and six in a single food vacuole (Fig. 39).

In many amoebae the ectoplasm of the advancing pseudopodium takes a dark blue stain with Heidenhain's haematoxylin (Figs. 4, 15, 17, 24). It is hardly possible that there is chromatin here as the chromatin material is otherwise found only in the endoplasm, except in exogenous buds where it is in small granules. It seems to be

due to a thickening of the ectoplasm at these places but why they shoued take the nuclear stain is not known.

Cysts.

After the amoebae had divided rapidly and spread over the culture dish they would often encyst. One could always find a few free moving amoebae around the edges unless the cultures were several months old, in which case all would have encysted.

The technique for the study of prepared specimens is difficult as the amoebae and the cyst shrink very easily. I got the best results by fixing them in ERLANGER's solution.

95 per cent Alcohol	4 parts
Glacial acetic acid	1 part.

They were stained in Iron Haematoxylin. However the best way to study the cysts was with vital stains, one percent eosin in water, new methylene blue R. and new methylene blue GG brought out the structure very well.

The cyst is opaque, round, with irregular edges and flattened dorso-ventrally so that in side view it is oblong. It consists of three layers (Fig. 34, 35). The middle layer is looped up to the outer one in from three to eight places. As a rule there are six of these places of attachment which look like circles with a dot in the center (Fig. 37). Diamond fuchsin stained the cyst slightly and brought out large spots all over it which took a deep red stain (Fig. 38). The nature of these spots was not determined. The cysts when stained with ZIEHL-NIELSON-carbolic-fuchsin, were acid fast, which most probably indicates the presence of fatty acids.

The encysted amoebae show most clearly when stanied with LUGAL's fluid. The cyst does not take the stain but the amoeba becomes a yellowish brown. In fig. 35 made from such a preparation the crescent shaped amoeba is seen resting on one side of the cyst and not filling the entire cavity.

The amoebae generally encyst after rapid division when they are small, irregularly elongated and apparantly exhausted as has been observed by DARLING (1913) for *Entamoeba tetragena.* The conditions under which they encyst seem to point to a weakened vitality. There are always bacteria present on the medium when the cysts are formed and most of the amoebae found free at that time are full

of bacteria (Fig. 40). It seems as though the digestive fluid had not been formed in sufficient quantity, owing to the rapid division. So it is not the lack of food but rather the loss of the power of assimilation. This is similar to the case of old age described by CALKINS (1902) for *Paramoecium.* He overcame this period of depression by changing the diet of the *Paramoecium.* In the case of the amoebae I have avoided it by immediately transplanting cultures, in which some were encystings onto new media which had been made up with either cyster broth, white of egg, or WITTE's peptone. This furnished a different kind of food from the usual bacteria.

The greatest number of cysts were formed by amoebae grown on agar made up with distilled water. Here most of them encysted nine days after they had been started on the new media. These amoebae were also full of undigested bacteria.

Large cysts were also found in nine day old liquid cultures which had been started in ovo-mucoid which was made up as follows: 30 cc. white of egg + 200 cc. 0,7 NaCl. To each tube of 5 cc. of this media was added a loop full of the egg yolk (WERRY 1913). Here again many bacteria were present.

The amoebae do not always encyst; for instance those grown on agar media made up with sea water have been kept for a whole year without encysting. Here, it must be noted, they do not divide very rapidly.

When the cysts were planted on agar made up with normal salt solution or with sea water, the amoebae would come out of their cysts. After repeated efforts this process was seen and camera lucida drawings made (Fig. 37). One amoeba was present in each cyst and it came out very slowly: the whole process taking nearly ten hours.

Movement.

The amoeba progresses by means of the large anterior pseudopodium in the same way as that described by DELLINGER for *Amoeba proteus* and *Amoeba limax.* He says: "... The anterior end advances by a series of lunges, which are never directly foreward but altemate from side to side of the direct line of advance."

When the amoeba has been disturbed by the movement of the cover glass or by the addition of water, it quickly draws in its large anterior pseudopodium. The ectosarc becomes evenly distributed around the endosarc and small pseudopodia are protruded from all

sides. These small pseudopodia often remain at the posterior end after the amoeba has regained its normal form and is again advancing (Fig. 1).

Mt. Holyoke College
South Hadley, Mass. U. S. A.,
January 21, 1914.

Literature.

CALKINS, G. N. (1902): Studies on the Life History of Protozoa. III. Biol. Bull. Vol. 3 No. 5.

— (1912): Genera and Species of Amoeba. Trans. 15th Internat. Cong. Hyg. and Demography.

DARLING, S. T. (1913): Production in Kittens Inoculated with Entamoeba tetragena of Pathological Forms Identical with Entamoeba Histolytica. Science N. S. Vol. 37 No. 953.

DELLINGER, O. P. (1906): Locomotion of Amoebae and Allied Forms. Journ. Exp. Zool. Vol. 3 No. 3.

GLÄSER, HANS (1912): Untersuchungen über die Teilungen einiger Amöben, zugleich ein Beitrag zur Phylogenie des Centrosoms. Arch. f. Protistenk. Bd. 25.

KITE, G. L. (1913): Studies on the Physical Properties of Protoplasm. Am. Journ. Phys. Vol. 32 No. 2.

WHERRY, W. B. (1913): Studies on the Biology of an Amoeba of the Limax Group. Arch. f. Protistenk. Bd. 30.

Description of Plates.

The figures were all drawn with a Spencer lens 1,8 mm oil immersion objective and a ZEISS compensating ocular 12. A camera lucida was used. The plates have been reduced one half.

Plate 16.

Fig. 1. A multinucleated amoeba showing fine pseudopodia at the posterior end.

Fig. 2. A typical amoeba with nucleus showing a round karyosome, surrounded by a clear zone.

Fig. 3. A large anterior ectoplasmic pseudopodium. The karyosome elongated by the shape of the amoeba.

Fig. 4. Late stage of direct division. Amoeba full of food vacuoles containing bacteria. Darkly staining areas in the ectoplasm.

Figs. 5, 6, 7. Unequal division of the karyosome in direct division.

Fig. 8. Two daughter karyosomes side by side after direct division.

Fig. 9. Beginning of mitosis. Clear area on one side of the karyosome.

Figs. 10, 11. Formation of the spindle from the clear area and the arrangement of the karyosome on the spindle.

Figs. 12, 13. Later stages in mitosis.

Plate 17.

Fig. 14. A multinucleated form, one nucleus dividing by mitosis.

Fig. 15. Later phase in division.

Fig. 16. Early stage of division. The nucleus with two darkly staining bodies which may be centrioles.

Fig. 17. Late division stage.

Fig. 18. Multinucleated form.

Figs. 15, 20. Multinucleated forms dividing.

Fig. 21. Late stage of mitosis in a small amoeba.

Figs. 22, 23. Fragmentation of the chromatin and formation of seven exogenous buds. Chromatin streaming into the buds.

Figs. 24, 25. Exogenous buds.

Figs. 26, 27. Small amoeba formed by budding.

Plate 18.

Figs. 28, 29. Formation of endogenous buds in multinucleated forms.

Figs. 30, 31. Extrusion of endogenous buds.

Fig. 32. Large chromidial granules.

Fig. 33. Endogenous bud near the ectoplasm ready to escape.

Fig. 34. Cyst showing three layers.

Fig. 35. Cyst with amoeba at one side.

Fig. 36. Amoeba with 100 chromatin granules. One in the process of being cut off from the nucleus.

Fig. 37. Amoeba coming out from the cyst which shows circles where the middle layer of the cyst is looped up to the outer layer.

Fig. 38. Cyst stained with diamand fuchsin which brings out large red spots.

Fig. 39. Bacteria in groups in the food vacuoles.

Fig. 40. Amoeba grown on agar made up with distilled water. Many undigested bacteria present.

Reproduction and Reactions to food in the Suctorian, *Podophrya collini* n. sp.

By

F. M. Root.

(From the Zoological Laboratory of the Johns Hopkins University.)

(With 11 text figures.)

Outline.

	page
Introduction	165
General	165
Material	165
Structure	166
Adult	166
Cyst	167
Reproduction	169
Formation of embryos	169
Morphological	169
In Suctoria in general	169
In *P. collini*	170
Structure of embryo	173
Behavior	174
Embryo-formation	174
Free life of embryo	175
Transformation of entire adult into embryo	176
In other Suctoria	176
In *P. collini*	177
Metamorphosis of embryo into adult	177
Reactions to food	181
Process of feeding in *P. collini*	181
Apparent choice of food	184

	page
Methods of observation	184
A. Species regularly eaten	184
B. Species which can be seized, but are not usually eaten	184
C. Species not seized	185
Factors involved	186
Review of main papers dealing with selection of food in the Protozoa.	187
In the Suctoria	187
In the other Protozoa	189
Summary	192
Appendix	193
Formal description of *Podophrya collini* n. sp.	193
Discussion of its systematic position	194
Literature cited	195

Introduction.

Owing to their small size and general rarity, the suctorians of the United States have received much less attention than most of the other groups of the Protozoa. In Europe, these protozoans have been rather extensively studied, and are comparatively well known, thanks to the excellent monographs of Sand (1901) and Collin (1912). But there is still much to be accomplished in the study of this group, even in Europe, while the field in America is untouched, except for a few purely systematic references.

In December of 1912 and again in the same month in 1913, there appeared in hay-cultures in the Zoological Laboratory of the Johns Hopkins University, large numbers of a small suctorian, belonging to the genus *Podophrya* (Ehrenberg). Dr. Bernard Collin, to whom a description and drawings were sent, has pronounced the species to be undescribed. It gives me great pleasure to describe it under the name of *Podophrya collini*, in recognition of the excellent work which Dr. Collin has done on the suctorians.

I desire here to acknowledge my great indebtedness to Dr. S. O. Mast, of the Johns Hopkins University, for his helpful supervision, both during the progress of my investigation and the preparation of this paper, as well as to Dr. Collin, for his ready kindness in replying to my letter of enquiry.

Material. The hay-cultures in which the podophryae appeared were seeded from ponds, located in the neighborhood of Baltimore, Md. In them there developed, as usual, various infusoria, Paramecium

being especially abundant. The podophryae were first observed at about the time when the paramecia reached their maximum in numbers. They were readily cultivated in watch-glasses, by feeding them on paramecia, two or three times a week. The observations described in this paper were largely made on living material. For the study of nuclear phenomena, the organisms were fixed in Schaudinn's sublimate-alcohol mixture and stained in toto with borax carmine.

Structure.

Adult. *Podophrya collini*, like most of the suctorians, is sessile in habit. It consists of an ovoid (rarely globular) body, attached to the substratum by means of a slender stalk and a small basal disc (Fig. 1). The stalk is attached to a slight conical protuberance

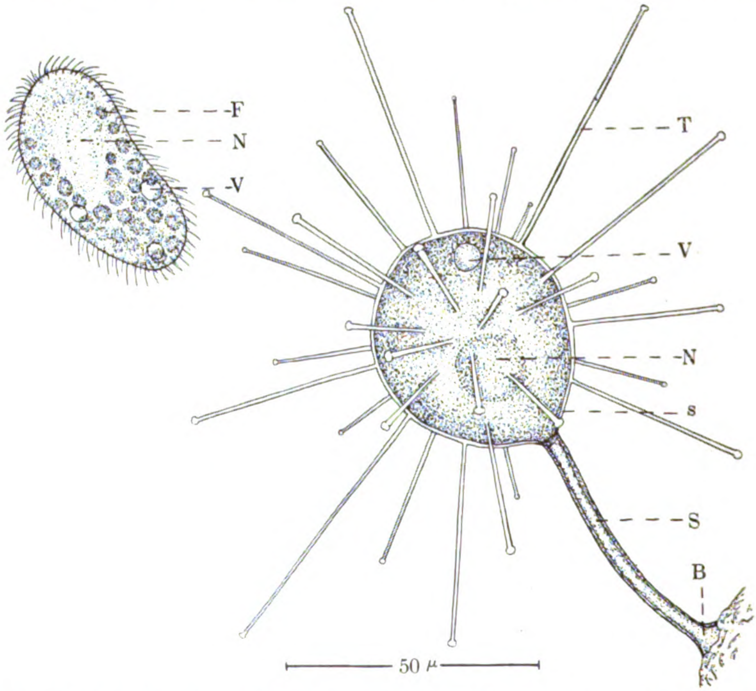


Fig. 1. Adult and embryo of *Podophrya collini*. Camera drawings from specimens killed in osmic acid.
B, basal disc of stalk; F, food vacuoles of embryo; N, macronucleus of adult and embryo; S, stalk of adult; s, gelatinous sheath of adult; T, tentacle; V, contractile vacuoles of adult and embryo; 50 μ, projected scale. $\times$ 666.

at the smaller end of the body. Scattered irregularly over the body there are 30 to 60 slender tentacles, each ending in a small bulbous enlargement, which may be called a sucker. These tentacles are hollow tubes, but appear rather rigid, and radiate from the body in every direction, making the organism look something like a small spherical pin-cushion, fairly well filled with pins.

The body of a normal individual measures, on the average, about 50 microns in length and 40 in breadth. When kept without food, the animal becomes much smaller, so that in the course of a week the length, in most cases, is reduced to about 25 microns and the breadth proportionally. During the process of feeding, on the other hand, the body increases greatly in size, and becomes nearly spherical in form. Such specimens measure from 75 to 100 microns in diameter. The largest specimen noted during my observations measured 118 by 102 microns, the smallest, 22 by 18 microns. The stalk is approximately cylindrical in form. In normal individuals it is of about the same length as the body, that is, about 50 microns, and about 3 or 4 microns in diameter. It does not vary in size with nutritive conditions, as the body does.

The tentacles are about 1 micron in diameter when extended. They are seldom, if ever, all absolutely motionless. Some are always either extending or retracting. Their length therefore, is difficult to ascertain. When fully extended they are about one and one-half times as long as the body. A single tentacle has been seen to vary from 35 to 70 microns in the space of a single minute. When contracted, the tentacles show evidences of a spiral thickening on their outer surface. As will be shown in greater detail later, the tentacles are the organs used by the animal in feeding.

The outer wall of the tentacles is continuous with the thin gelatinous sheath which surrounds the body of the organism. The body is filled with apparently granular protoplasm. Somewhere near the outer surface it always contains a single globular contractile vacuole. In the center of the cell there is a large macronucleus, either spherical or ellipsoidal in shape (Fig. 2). Spherical macronuclei vary from 12 to 18 microns in diameter, while the ellipsoidal forms measure from 25 to 35 microns in length, and 8 to 12 microns in breadth. After staining, from 3 to 12 small spherical micronuclei are visible. These are scattered near the macronucleus or at the periphery of the cell. They measure about 2 microns in diameter.

Cyst. When left without food for several weeks, the podophryae become smaller and smaller and finally encyst in situ. In

the process of encystment the gelatinous sheath which surrounds the body becomes much thicker. The tentacles degenerate, beginning at their tips, and form curious, elongated knobs, within which the basal portion of the tentacle can still be distinguished (Fig. 3). These knobs have been observed to persist, unchanged, for at least four

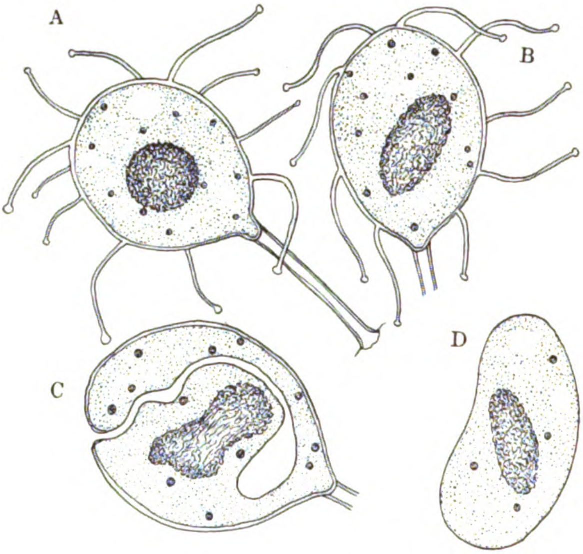


Fig. 2.

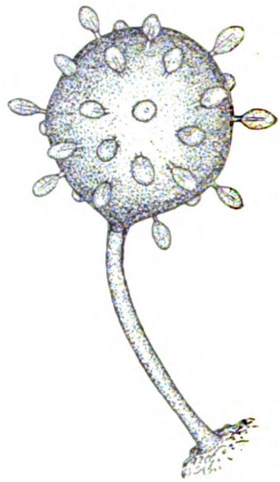


Fig. 3.

Fig. 2. Optical sections of adults and embryo stained in toto in borax carmine. Camera drawings. × 666.

A, B, adults, each showing maronucleus and several mironuclei. C, division of macronucleus to form nucleus of embryo. Tentacles omitted. D, Embryo, showing macronucleus and four micronuclei.

Fig. 3. Cyst. Formed in situ by thickening the gelatinous sheath and allowing the tentacles to degenerate. Camera drawing from living cyst. × 666.

months, but they are rather easily broken off, and it is only rarely that an old cyst can be found which shows its full complement of knobs. On the other hand, it is very rare to find a cyst without any knobs.

The process of encystment in *P. collini* resembles that described by Collin (1912, p. 245 and Fig. LXVIII) for *P. maupasii*. Dr. Collin informs me, however, that in this species the tentacles are ultimately entirely withdrawn, leaving the surface of the cyst smooth.

Reproduction.

Production of embryos. The suctorians are remarkable among infusoria, in that they normally multiply by forming ciliated, freeswimming embryos which are very different from the tentaculate, sessile parents.

Within the entire group, two main methods of embryo-formation are recognized. These are known as (1) external and (2) internal budding. A few species are known, also, (3) which show a type intermediate between these two; this has been termed semi-external budding.

Either external or internal budding may be either simple or multiple; producing only a single embryo, or several at one time.

1. In external budding, which is the usual method found in the Podophryidae, the nucleus divides, usually unequally, and the body of the parent separates into two or more parts. In the different species of the genus *Podophrya,* the division of nucleus and cytoplasm is practically equal, and is transverse, separating the parent individual into two halves. One of these remains attached to the substratum by the parental stalk. The other half, however, as it is constricted off, gradually changes its shape, retracts most of its tentacles, protrudes cilia, and ultimately swims away.

2. In internal budding, part of the outer surface of the parent invaginates to form a flask-shaped "brood-pouch". Within this one or more protuberances develope. These soon form a band of cilia on their free surface, are provided with nuclei from the parent, and are finally constricted off into the cavity of the "brood-pouch". Here they may swim about for a time, but sooner or later they reach the exterior, squeezing out through the mouth (often called the "birthpore") of the flask-like cavity.

3. Sand (1901, p. 279 and Plate I, fig. 2; Plate XXIII, figs. 7 and 11) und Collin (1911, p. 469 and fig. XXVII; a, b, c) have described, in two species of the genus *Paracineta* (*P. homari* and *P. crenata*), which is closely related to the genus *Podophrya*, a curious method of embryo-formation, intermediate between the two more common methods which have just been described. In this "bourgeonnement demi-externe" or "demi-interne" (Collin seems to use the two terms interchangeably), part of the outer surface invaginates, but instead of forming a flask-shaped pouch, it remains widely open to the exterior, as a short round-bottomed cavity. This cavity

becomes ciliated on its inner surface, and is then evaginated, being at the same time filled with cytoplasm. Later it receives a nucleus, provided by the division of the parental macro-nucleus, and finally constricts off as an embryo. This seems to be a transition stage between completely external and internal budding. Collin (1912, p. 159) suggests, moreover, that in *Paracineta limbata*, where the embryo seems to be formed wholly within the body of the parent, further transition stages leading toward true internal budding will probably be found with more careful study.

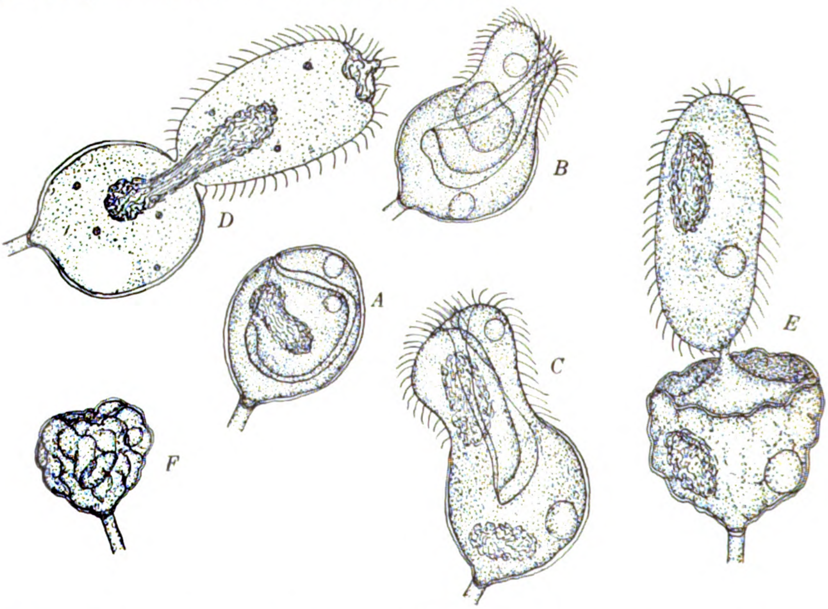


Fig. 4. Embryo formation. Camera drawings from specimens stained in toto. × 666. D is an optical section. The others are views of the whole organism. The tentacles are omitted in all.

A, the division of the macronucleus, to provide the forming embryo with a nucleus. The mass of protoplasm which is to form the embryo lies within the invaginated sac, which now has the shape of a double-walled cap. B, C, stages in the evagination of the sac. In B the nucleus has not yet divided; in C this division has already taken place, as is more usual. D, a stage following that represented in B. The delayed division of the macronucleus is taking place. E, adult and embryo just before the final separation. F, shrunken adult, immediately after separation of embryo.

The process of embryo-formation in *Podophrya collini* differs from any as yet described, and seems to approach most nearly that which Collin postulates for *Paracineta limbata*. A trough-shaped depression appears on the outer surface of the body, extending from the distal

pole about half-way down one side. This depression becomes deeper and narrower, and ultimately the outer edges fuse, leaving only a small circular opening at the distal pole. Thus the depression is transformed into a small tube with an opening at one end. This tube now separates from the surface of the cell everywhere except at the open end (Fig. 5, 1). Lying free in the interior, it soon enlarges and assumes a more central position. At the same time,

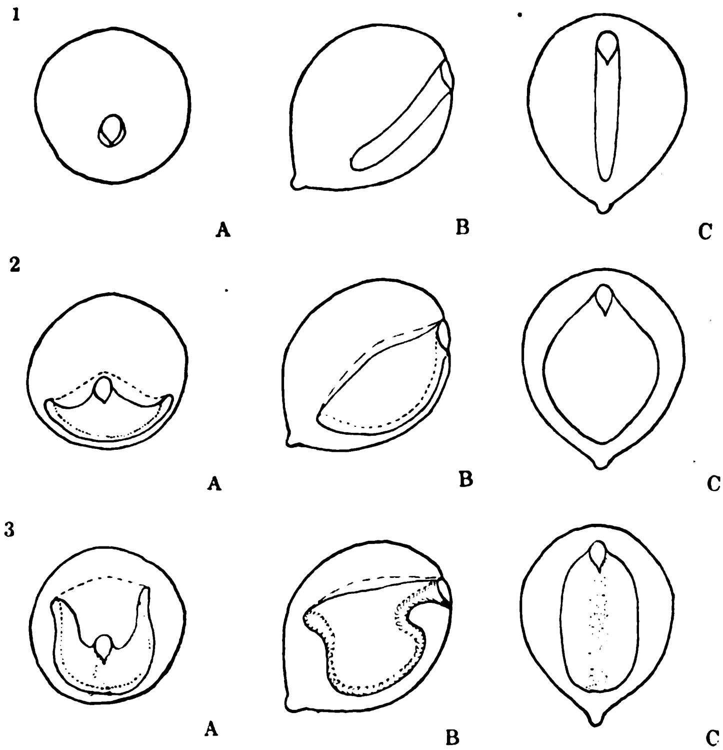


Fig. 5. Diagram of three stages in the developement of the embryonic sac. A, as seen from the distal pole. B, lateral view. C, frontal view. 1, the sac has just separated from the surface. 2, an early stage in the process of invagination. 3, invagination completed, cilia formed. In 3 the dotted areas show where the cilia are protruded.

a portion of the internal protoplasm presses against it from the side nearest the longitudinal axis of the body. As a result, the tube, which, left to itself, might have become roughly ovoid in shape, is converted into a slightly flattened, double-walled cap-like structure (Fig. 4, A). This process is comparable with what takes place when one side of a hollow rubber ball is pressed in until it

lies close against the opposite one (cf. Fig. 5, 2). If the hemisphere thus formed is now bilaterally compressed, until its width is only about two-thirds of the original diameter of the ball, it will be of about the same shape as the forming embryo at this stage (cf. Fig. 5, 3). Later the invaginated sac increases in size still more, and the mass of protoplasm lying within its concavity comes to have the shape of one end of a flattened ellipsoid instead of one end of a flattened sphere. This mass of protoplasm represents the anterior half of the future embryo, whose shape it has, to a considerable extent, already assumed. It will hereafter be referred to as the embryo. Next the cilia are formed. They are protruded into the lumen of the cap-like sac from the inner surface of both of its walls. They appear in the form of a band, which, on the invaginated wall of the sac, follows and is in contact with the edge of the flattened embryo. It continues across the bottom of the sac and returns on the other wall, directly opposite the band on the edge of the embryo. Here it is, of course, not in contact with the embryonic protoplasm. No cilia are formed on the flat sides of the embryo (cf. Fig. 5, 3).

A contractile vacuole now appears in the embryo, and the parental macro-nucleus divides (Fig. 4 A; Fig. 2 C.), one half going to the embryo, which also receives one or more micro-nuclei. There is no evidence, however, indicating division of these micro-nuclei at this time. They apparently divide earlier in the developement of the individual.

When the embryo seems to be completely organized in all but form, the original opening of the sac increases in size, and the sac evaginates (Fig. 4 B and C). The evagination ordinarily takes place with approximately equal rapidity on all sides of the circular opening, but in exceptional cases, one side may evaginate with greater rapidity than the others. As the sac evaginates, the nuclei and protoplasm of the embryo flow into it, and it is soon constricted off, and swims away, leaving behind it the shrunken body of the parent (Fig. 4 E and F). The embryo may develope several contractile vacuoles before leaving the parent, or it may possess only a single one at that time. Occasionally, the division of the macronucleus is delayed until the evagination of the sac is complete (Fig. 4, D). This may indicate that the condition of affairs in *P. collini* has been derived from such a condition as is found in *Paracineta homari* and *crenata*.

The time occupied in the formation of an embryo varies some-

what, but averages about an hour. In the 20 cases where actual observations have been made, the maximum time was 71 min.; the minimum, 42 min.; and the average, 55,4 min. The time which elapsed between the "birth" of one embryo and the beginning of the formation of another, averaged 18,3 min.; minimum, 11 min.; maximum, 24 min.

It is evident that this method of embryo-formation is intermediate between the cases of semi-external budding which have been described heretofore, and true internal budding. It is more internal than the former, in that the contractile vacuoles and the nuclei, ordinarily, are formed while the embryo is still wholly within the body of its parent, and in that the embryo when evaginated is ready, almost at once, for a free life. It is more external than the latter, in that the embryo is not constricted off within a brood-pouch, but the entire sac, which appears to be homologous with the brood-pouch, is everted to form the pellicle of the embryo. It is probable that the method of embryo-formation in *Paracineta limbata* will be found to resemble this method in some respects, although the language of Collin (1912, p. 159) would lead one to believe that in this species the process is still closer to true internal budding than it is in the present case.

The embryonic developement of *P. collini*, like that of the other suctorians, shows that the antero-posterior axis of the adult extends from the distal to the proximal pole. Then, as is clearly shown in Fig. 4, D and E, the embryo has the same axial relations as its parent. This will be referred to later, in connection with the metamorphosis of the embryo.

The free-swimming embryo (Fig. 1) is somewhat kidney-shaped, but so flattened as to be biconcave in the center. The anterior lobe is usually slightly wider and thinner than the posterior. The greatest width is a little less than half the length, and the greatest thickness about one sixth of the length.

The embryos vary greatly in size, depending, as will be shown later, on the size of the parent and the position of the embryo in the series produced by a given parent after a period of feeding. The extremes which I have found are 50 to 90 microns in length, and 23 to 46 microns in breadth. The average length and breadth of 30 embryos taken at random were 73,1 and 34,0 microns, respectively.

In contrast to the other species of *Podophrya*, in nearly all of which the embryos bear at least a few tentacles, the embryo of

P. collini lacks them entirely. The cilia are localized in a band, extending around the embryo on its edges. No cilia are present on the flat sides. Thus the embryo, like those of the other members of the genus, is really peritrichous in its ciliation, though it seems holotrichous when seen, as is usually the case, lying on one of its flat sides.

The protoplasm of the embryo is clear and translucent, but in most individuals it contains, everywhere except in the thin anterior portion, numerous opaque food-vacuoles received from the parent. The embryo has an ellipsoidal macronucleus, several (1—8) micronuclei like those of the adult, and from 2 to 4 small spherical contractile vacuoles, which are situated near the edges in the posterior lobe.

I habe been unable to find in the literature on the suctoria any statements as to definite time-relations between the process of reproduction and other life processes. In *P. collini* I have found, however, that reproduction occurs only immediately after feeding. During the process of feeding, the suctorian draws in the protoplasm of a paramecium or other infusorian through its tentacles, until it is enormously distended, often reaching more than twice its original size. Fifteen to forty minutes after feeding has ceased, the organism begins to give off embryos, a considerable number being produced in the course of a few hours. While I have no records showing the exact number of embryos given off, I have records of 12 cases where the specimens were isolated while attached to a paramecium, and observed about twelve hours later. In these cases the average number of embryos found was 9,9 the minimum being 5, the maximum 15.

This, however, does not mean that all of these embryos were produced, as such, by the original adult. For by isolating the embryos produced after feeding, it was found that one or two of the earlier ones often divide while in the free-swimming state, each producing two smaller embryos. In a single instance, this division has been observed to be delayed until a very early stage in the process of metamorphosis of the embryo into an adult. Thus the average number of embryos produced by each adult is probably about 8.

Each embryo contains somewhat less than half of the protoplasm of the parent. In cases where the volumes have been actually computed, the embryo consisted of from 30,2 to 63,5 per cent. of the parental protoplasm. The average for ten cases was 45,6 per

cent. The ratio does not remain constant throughout the series of embryos produced by an adult, however. The embryos formed at first contain less, in proportion, than those formed later. For example, compare Fig. 2 C, an early embryo, with Fig. 4 A, a later one. Nevertheless, the embryos produced at first are often more than twice as large as the last one formed.

If podophryae which have not been fed for 3 or 4 days are isolated, they do not produce embryos, but become smaller and smaller and finally encyst in from ten to twenty days.

In watch-glass cultures, whose bottoms were well covered with podophryae, the sequence of events described above was followed en masse. The following is a typical experiment. At 9:00 AM a few drops of fluid containing many paramecia were added to a culture containing numerous podophryae. Within a few minutes the paramecia had been captured in large numbers, and by noon not a single one was found alive. At about 3:00 PM, a few large embryos were observed, and by 6 o'clock they were quite numerous. All the next day the dish fairly swarmed with embryos of all sizes, and metamorphosing embryos and small adults were very numerous. On the third day there were only a few embryos but many young adults. On succeeding days not an embryo was found until after the next feeding. This succession was observed in many experiments. When a very large number of paramecia were added, a few sometimes remained uncaptured until the second day. In such cases a few embryos were present even on the fourth day. When not thus experimented upon, the cultures were fed every two or three days. Under these conditions embryos were always present in the dishes.

Taken together, these isolation experiments and observations on mass cultures show clearly that reproduction takes place in *P. collini* only immediately after feeding, and ceases as soon as the increased size has been reduced to about the normal condition.

Free life of embryo. During their free life the embryos are ceaselessly active. They swim about rapidly in a narrowly spiral course, rotating on their longitudinal axes. The direction of the rotation varies. The condition most often observed was one in which the rotation was alternately in one direction and then in the other, from 6 to 15 revolutions being made in each direction before a reversal took place. In other cases, however, individuals were observed which rotated in a single direction only, as long as

they could be followed. Such individuals were seen to rotate either exclusively clockwise or exclusively counter-clockwise.

When one of the embryos strikes against an obstruction with its anterior end, it responds with an avoiding reaction. It backs a short distance very rapidly, and turns in some other direction before proceeding. At some time during this avoiding reaction, the direction of rotation usually becomes reversed.

Since the embryo is without a mouth, it does not feed at all during its free life, but subsists on the food received from its parent. By the end of the embryonic life, this has usually been completely consumed, and no food-vacuoles remain visible.

The length of the free life of an embryo is extremely variable. In exceptional cases I have observed one settle down and metamorphose immediately after being set free from the parent. On the other hand, embryos were occasionally found which remained free-swimming for as long as 24 hours. The great majority, however, begin their metamorphosis within two hours from the time of their liberation. In a typical experiment, where 12 embryos were isolated immediately after being set free, the lengths of their free lives were as follows. One; 55 min., two; 1 hr. 45 min., one; 1 hr. 50 min.; two, 1 hr. 55 min.; three, 2 hr.; two, 2 hr. 3 min.; one, 2 hr. 8 min.; average for the twelve, 1 hr. 51,5 min.

Transformation of an entire adult into an embryo. Embryos are sometimes formed by the transformation of an entire adult into a single embryo. Collin (1912, p. 187—189) distinguishes two types of "transformation totale en embryon", which correspond to external and internal budding respectively.

In forms which reproduce by external budding the animal in the process of total transformation, breaks loose from its stalk, partially retracts its tentacles, protrudes cilia, and swims away leaving only the stalk behind. This process seems comparable to the condition found in the Vorticellidae, where an individual may leave its stalk and develope a posterior ciliary girdle.

In species which produce their embryos by internal budding, the transformation of an adult into an embryo is also a process of internal budding. The bud, however, receives practically all of the protoplasm of the individual. A single large embryo is thus formed within the sheath of the adult, is set free by its rupture, and swims away, leaving behind it the old stalk and sheath, and sometimes a small residue of protoplasm. This process, Collin suggests (1912, p. 189), is equivalent to an abortive division.

In *Podophrya collini* the process differs from both of those described. In this form the sheath suddenly ruptures at the distal pole and the protoplasm streams out as an amoeboid mass (Fig. 6). This mass, originally roughly spherical in shape, draws together into a more ovoid form (Fig. 7), flattens out, and assumes the typical embryonic shape (Fig. 8). Cilia appear next, and the embryo swims away leaving behind it the stalk, sheath, and the coverings of the tentacles. In some cases, when the stalk is not firmly attached, the basal disc gives way, and the embryo drags its shrunken "mask" behind it for a time (Fig. 9). The entire process occupies less than five minutes.

Thus *P. collini*, as would be expected from its intermediate method of embryo production, shows a type of "transformation totale en embryon" which is different from either of the two types hitherto described, and intermediate between them. The sheath and the coverings of the tentacles are left behind, yet there is no formation of an embryo within the sheath.

The embryos formed from an entire adult are, for practical purposes, indistinguishable from those formed in the ordinary way. In general, they are larger and contain more food vacuoles and more micronuclei, but none of these characters suffice for certain identification.

Collin (1912, p. 187) states that the transformation of an adult into a single embryo is caused by "special conditions, usually unfavorable". In *P. collini* every individual that I have found transforming and every empty sheath (with a single exception to be mentioned later) which indicated that a specimen had transformed there, were entangled in masses of the discharged trichocysts of *Paramecium*. In one case, a sheath was found free from trichocysts, but here a majority of the tentacles had been broken, presumably by the struggles of the prey. When podophryae and paramecia were confined under a supported coverglass, so that the trichocysts were forced to spread out in a thin layer, practically every podophrya became entangled and transformed into a single embryo.

Thus it appears probable that this process is a reaction to entanglement, perhaps to the inability of the tentacles to function normally. What advantages, if any, this method has over that of normal embryo formation, is not clear, except that, of course, by this method all the protoplasm of the entangled individual is at once removed to a more favorable environment.

Metamorphosis of embryo into adult. When the

embryo is ready to settle down, it ceases swimming and lies motionless on the bottom of the dish. During the metamorphosis three

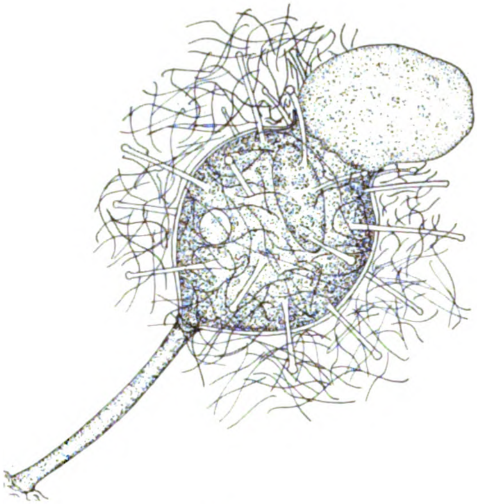


Fig. 6.



Fig. 8.

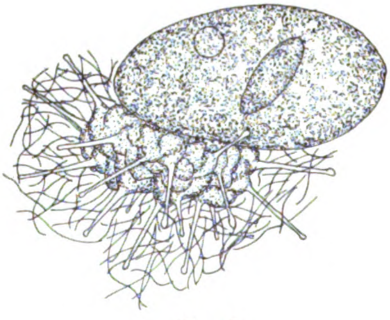


Fig. 7.

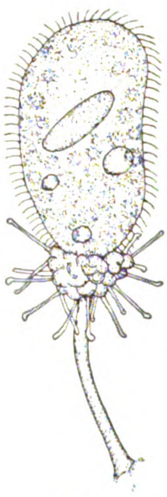


Fig. 9.

Fig. 6. Beginning of the transformation of an entire adult into an embryo. The podophrya is entangled in a mass of trichocysts (represented diagrammatically) The sheath has ruptured and the protoplasm is flowing out. After camera sketch from a living individual. × 666.

Figs. 7 and 8. Further stages in the transformation into an embryo. Camera sketches from life. × 666. — Fig. 7. The protoplasm has drawn together into an ovoid form. Fig. 8. The shape of the embryo has been assumed, but cilia have not yet been formed.

Fig. 9. An embryo formed by transformation from an adult, swimming free in the water. The basal disc of the old stalk has given way, and the shrunken "mask" still trails behind the embryo. Camera drawing from specimen killed by exposure to osmic fumes. × 666.

relatively distinct processes take place. These are the appearance of the tentacles, the formation of the stalk and assumption of the adult form, and the loss of the cilia and secretion of the sheath. These three processes vary greatly in their time relations in different individual cases. The location of the point of attachment to the substratum is also variable, to a limited extent. Some embryos become attached at their anterior ends, but the majority at their posterior, as is shown below. I will describe and illustrate a single typical case, studied in detail, and it is to be understood that, while the same processes occur in all other embryos, their temporal relations to each other may be very different from those described.

In the case mentioned above, the ends of the first tentacles began to appear nine minutes after the cessation of movement. They grow, one after another, out of the anterior end of the embryo (Fig. 10 A). As far as could be observed, there is no definite order in the appearance of the tentacles. Each tentacle is fully functional as soon as it appears, and the capture of prey seems to produce no effect, either to accelerate or retard the rate of the metamorphosis. In the later part of the free life of the embryo, in the case under observation, many minute, highly refractive droplets had appeared in the posterior portion of the embryo. As the tentacles grew out, these droplets moved slowly and almost imperceptibly toward a point near the extreme posterior end of the embryo, where they coalesced, as fast as they arrived, to form a large refractive spherule (Fig. 10 A and B, b). Of the three contractile vacuoles of the embryo, the most anterior one increased in size (Fig. 10 A, V), while the other two grew smaller and smaller (Fig. 10 A, v) and finally disappeared. Just after the refractive droplets began to coalesce, the delicate pellicle of the embryo began to secrete the thicker sheath of the adult, and the cilia soon disappeared (Fig. 10 B), seeming to be gradually withdrawn into the body. The refractive spherule was completely formed twenty-five minutes after the cessation of movement. By this time, also, the body had lost its flattened shape and become ovoid. The tentacles were still increasing in number and size. At thirty minutes after the beginning, the refractive spherule was pushed partly out of the extreme posterior end of the embryo (Fig. 10 C), and at once adhered to the substratum, taking up its proper function as the basal disc of the future stalk.

During the next two hours, the body became more and more globular, the tentacles increased still more, both in size and number, and the stalk was formed and began to elongate (Fig. 10 D and E),

so that the organism now presented all the characteristics of the adult.

Thus, in this species, the embryos settle down either on the anterior or the posterior end, so that the new longitudinal axis is always parallel with that of the embryo, which, it is to be remembered, was identical with that of the parent. With regard to this, therefore, *P. collini* does not obey Collin's general rule (1912, p. 430),

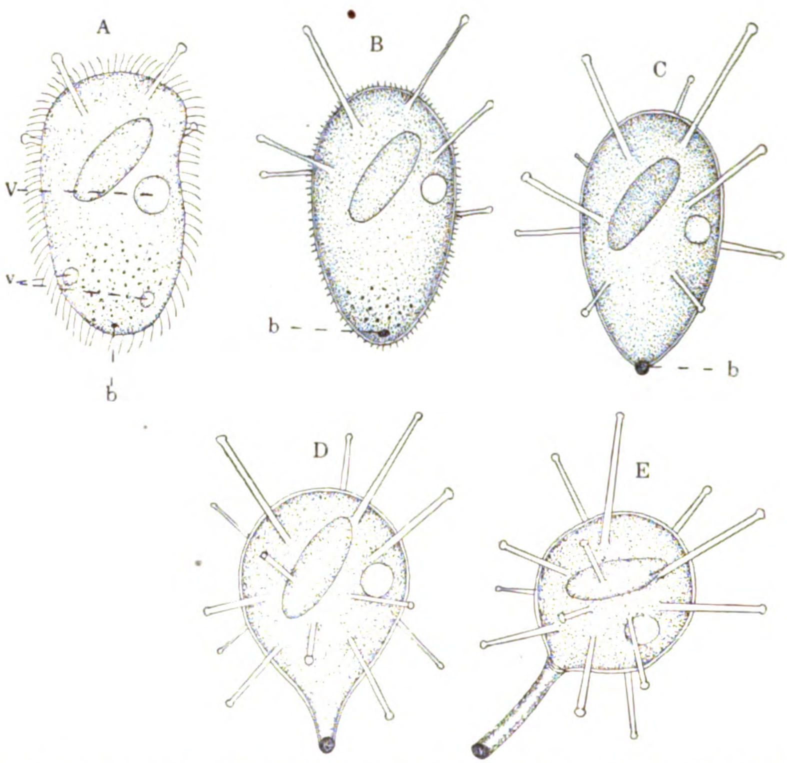


Fig. 10. Stages in the metamorphosis of embryo into adult. From camera sketches of a single living individual. × 666.

A, 12:40 P.M., ten minutes after movement ceased. Several tentacles are already formed and the refractive droplets which are to form the basal disc (b) are beginning to fuse near the posterior end. V, anterior contractile vacuole, which increases in size to form the vacuole of the adult: v, posterior contractile vacuoles, which grow smaller and eventually disappear. B, 12:50 P.M. Tentacles increasing in size and number. Basal disc spherule nearly complete (b). Sheath forming and cilia partly withdrawn. Body more ovoid in form. C, 1:10 P.M. Tentacles still increasing, sheath formed, spherule of basal disc complete and protruded from the posterior end. D, 2:00 P.M. Early indications of stalk formation. E, 3:00 P.M. The adult form has been assumed.

that the longitudinal axis of the new individual is always perpendicular to that of the parent. In this case, ordinarily, the condition corresponds to that supposed by Bütschli (1889, p. 1910) to exist in all suctorians, when he formulated his rule of the "correspondence of axes" of parent and progeny.

Reactions to Food.

Process of feeding in *P. collini*: As was previously stated, *Podophrya collini*, like the great majority of suctorians, is a sessile organism. Its body stands about fifty microns above the substratum, and its tentacles, ending in suckers, radiate out in every direction except directly downward. It feeds largely on paramecia. In swimming about at random, these creatures, of course, occasionally come in contact with the tips of the tentacles. When this occurs, they always stick fast. The older authors considered that this was due to the presence of a viscid secretion or a bit of "naked protoplasm" at the tip of the tentacle (see Bütschli 1889, p. 1864; Sand 1901, p. 61), but Collin holds (1912, p. 252) that it is due to a process of suction, resulting from contact with the prey. As soon as the paramecium is thus caught, it jerks violently backward, if held by the anterior end; or attempts to swim forward, if held by the posterior end. If only one tentacle has become attached to it it may thus escape, but ordinarily its struggles only bring it into contact with still more tentacles, belonging to the same podophrya or to neighboring individuals, and thus it usually becomes securely fastened within less than a minute.

The increase in the number of tentacles that become attached is not due solely to the movements of the paramecium, however, but in part also to the movements of the tentacles. As long as the paramecium continues to struggle, the free tentacles of its captor, beginning with those nearest to the point of action, bend over successively and become attached to the prey. If the struggles of the paramecium are prolonged, the bending of the tentacles may continue until only a few tentacles situated almost directly opposite the original point of attack remain unattached. As soon as the paramecium lies quiet, the tentacles cease bending, and those which are not yet attached to the prey slowly resume their normal position. This process results in the final holding of the prey by a number of tentacles roughly proportional to its size. As an illustration of this, I give below the average size of three different species, and

the average number of tentacles by which they were held, in twentyfive cases of each.

organism	size (av. of 25)	number of tentacles (av. of 25)
Halteria grandinella	32,8 by 29,4 microns	1.2
Colpoda sp.	64,2 „ 36,5 „	3,6
Paramecium aurelia	161,9 „ 43,1 „	10,4

When a paramecium is seized, it discharges a large number of trichocysts. These form a mass of a gelatinous consistency and, in some cases, seem to impede the bending of the podophrya's tentacles. They appear to function protectively to a slight extent. A similar, but somewhat more effective, protective function has been ascribed to the trichocysts by Mast (1909, p. 105—106) in encounters between *Paramaecium* and *Didinium*.

After the prey is quiet the attached tentacles contract irregularly, becoming thicker and shorter, and at the same time drawing the prey closer. Now, through each of these tubes, the protoplasm of the paramecium can be seen streaming into its captor, where it collects in large vacuoles. During this process of suction, the paramecium lies motionless, apparently dead, except for the protoplasmic circulation. Several times, however, I have seen an animal in this condition make a sudden lunge and escape, even after a considerable quantity of protoplasm had been sucked out of it.

As the feeding goes on, the surface of the paramecium at first becomes wrinkled, because of the removal of much of the internal protoplasm. Later, however, it becomes plump again, apparently by taking up water, and ultimately bursts, leaving nothing but a shapeless heap of granules, in which the nuclear material can usually be distinguished.

The time occupied in consuming a paramecium is extremely variable. It depends on the size of the paramecium and the number of podophryae which have seized it. In some experiments where a large race of paramecia (average size, 213,5 by 57,1 microns) were being used as food, the following typical times were noted. In each case a single paramecium was being consumed by one or more suctorians.

1	podophrya	3	hrs.	41	min.
2	„	2	„	38	„
3	„	2	„	5	„

5	podophrya	1	hr.	45	min.
6	"	1	"	30	"
7	"	1	"	14	"
8	"	1	"	23	" .

During the process of feeding, as has been previously mentioned, the podophrya increases in size to from one and one-half to two and one-half times its former diameter. These large, globular individuals full of opaque food vacuoles, are very different in appearance from the small, ovoid, translucent specimens which have not obtained

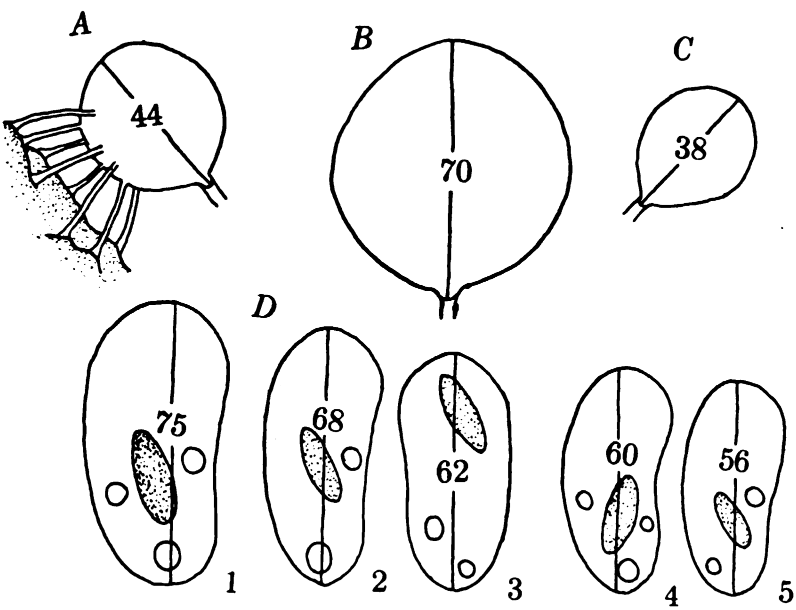


Fig. 11. Size relations in the course of feeding and reproduction. Camera outlines from living adult, and embryos killed by fumes of osmic acid. Numbers indicate lengths in μ. $\times$ 500.

A, adult at 10:00 A.M. just after seizing a paramecium. Only the tentacles attached to the prey are shown. B, same individual at 4:00 P.M., after the paramecium had gone to pieces. Tentacles omitted. C, same at 10:00 A.M. the next day, after giving off 5 embryos. Tentacles omitted.

D 1, 2, 3, 4, 5. The five embryos given off by this individual.

any food. During the giving off of the embryos, these food vacuoles are in part given off to the embryos, as mentioned above, and in part digested. The increase in size is lost, and indeed, the podophrya, after giving off all of its embryos, is usually slightly smaller than when feeding began (Fig. 11).

Apparent choice of food. An important part of my work upon *P. collini* was a detailed investigation of its apparent preferences in the matter of food. As will be mentioned later, much has been written on choice of food in the suctorians. All previous observers have worked only en masse, observing what species were able to survive and multiply in the presence of different suctorians. These experimental results were supplemented by accidental or incidental observations on the act of feeding itself.

In my own work I have used two methods of observation. The first is identical with that of other workers, and may be called the survival method. The second, however, has not been carried out in any detailed way before. It will be referred to as the direct observation method. The survival method consists in adding to watch-glasses containing vigorous cultures of *P. collini* a few drops of water containing numerous specimens of the species to be tested, and observing whether they are captured or survive.

The direct observation method consists in mixing upon a slide cultures containing numbers of starved podophryae with specimens of the organism to be tested, and observing, under the high power of the compound microscope, precisely what occurs when the animals come in contact with the tentacles of the podophryae.

By these methods, the reactions of *P. collini* in the presence of most of the commoner infusoria have been ascertained. On the basis of these reactions, the infusoria may be divided into three main groups: A. Species regularly eaten; B. Species which can be seized, but are not usually eaten; C. Species never seized. A detailed account follows.

A. Species regularly eaten.

Paramecium caudatum and *P. aurelia*. *Paramecium* is the normal food of *P. collini*. No considerable multiplication was observed to take place without its presence.

Colpidium sp.?, *Colpoda* (several species), *Glaucoma* sp.? *Halteria grandinella*. All of these species were eaten readily, when present.

B. Species which can be seized, but are only rarely eaten.

Frontonia (several species), *Bursaria truncatella*. These very large organisms are readily seized, but ordinarily their great momentum immediately breaks the connection. Occasionally, however, the basal disc of the podophrya gives way, and it fills itself with protoplasm while

clinging to the larger creature. But it never succeeds, judging from my experience, in withdrawing enough protoplasm to cause death.

Vorticella (several species). These were seized when they came within reach, but always jerked free by the instant and violent contraction of their stalks.

Oxytricha (several species), *Euplotes* sp.?, *Stylonychia* (several species). These hypotricha creep about on the under side of the surface film, on the substratum, or even over the podophryae themselves, by means of their cirri, which the tentacles seem unable to grasp. The podophryae are able to seize and kill any of these forms if the tentacles come in contact with their unprotected upper surface. Since the podophryae stand some distance above the substratum, the hypotricha are safe as long as they creep on its surface, out of reach of the tentacles.

Loxodes rostrum, *Chilodon cucullus*. These two bottom-living forms ordinarily escape for the reason last mentioned under the hypotricha, but they can be seized if any surface comes in contact with the tentacles of the suctorian.

Didinium nasutum. This strong-swimming form is readily seized, but usually pulls free without difficulty. Occasionally, one is held and eaten, usually when resting on the bottom, gorged with food.

C. Species never seized.

Stentor coeruleus, *Spirostomum ambiguum* and *S. teres*, *Coleps hirtus*, various rotifers and worms. These are all forms with tough outer coverings to which the tentacles of the podophryae seem unable to adhere. There seems to be a tendency for the tentacles to cling to the surface, for they glide along the body and slip off at the end. It is quite possible that the secretion of mucus, especially in Spirostomum and perhaps Stentor, has something to do with the immunity of these forms.

Flagellates.

Peranema trichophora. A bottom-living form which is immune because of its habit. It is possible that it would be immune, under other circumstances, because of some chemical or physical factor.

Chilomonas paramecium, *Spondylomorum sp.? Bodo sp.?* These are not seized, even when they touch the tips of the tentacles. It is possible that, if Collin's explanation of the seizing process as caused by the beginning of suction is correct, these species are too small to give the necessary stimulus.

Euglena viridis, *deses*, *oxyuris*, *spirogyra;* and *Phacus triqueter*, *longicauda*, *pleuronectes*. These Euglenoids are not seized, even if they touch the tentacles. Their immunity may be due to their tough pellicle (see Bütschli, 1889, pp. 677—680). Other possible causes of this immunity are the gelatinous secretions which the Euglenas, especially, are known to give off; or some chemical factor.

Embryos of *P. collini*. It has often been observed, in other forms, as well as in this one, that the embryos of any species of suctorian are not molested by the adults of the same species, though they frequently run against their tentacles. It seems necessary to assume some chemical factor, caused by the similarity of their protoplasm, to account for this immunity.

Thus four main factors, with a fifth considered as a possibility, may be postulated in attempting to account for the apparent food preferences of *Podophrya collini*. These, with the organisms which perhaps owe their comparative immunity to them, are as follows.

(1) The character of the outer surface of certain organisms, as to physical and chemical constitution, mucus secretion, etc.
Stentor, *Spirostomum*, *Coleps*, *Euglena*, *Phacus*, Embryos of *P. collini*, worms, rotifers.

(2) The large size or great activity of certain organisms.
Frontonia, *Bursaria*, — *Vorticella*, *Didinium*.

(3) The characteristic behavior of the organisms; combined with. —

(4) The characteristic habit of *Podophrya collini*.
Hypotricha, *Loxodes*, *Chilodon*, *Paranema*.
Possibly also.

(5) Size too small to stimulate the seizing mechanism of *P. collini*.
Chilomonas, *Spondylomorum*, *Bodo*.

Review of the Main Papers on Selection of Food in the Protozoa.

In the Suctoria. In the literature on food-taking in the protozoa, incidental references to selection of food are very numerous, while detailed observations or experiments are few. In regard to various species of suctorians, Engelmann (1876), Maupas (1876 and 1881), and Dangeard (1890), among others, have all made incidental observations on food preferences. A typical observation is that of Maupas (1876) on *Podophrya libera* (wrongly identified as *P. fixa*). After reporting that it fed on *Stylonychia histrio* and *Cyclidium glaucoma* he says (1876, p. 408).

"Il semblerait, d'ailleurs, que cette Podophrye ne possède pas une force d'arrêt semblable, ou plutôt que ses ventouses ne trouvent pas une prise aussi tenace sur tous les Infusoires. Bien que le Paramecium aurelia fût presque aussi abondant dans l'eau où je l'observais que la *Stylonychia histrio*, je n'ai jamais vu un seul individu de la première espèce arrèté par elle."

Later on the same page he remarks: "Peut-être faut-il voir là un choix de l'Acinétinien, qui préfère certaines Infusoires à d'autres, et n'arrête pas ces derniers."

The latter sentence hardly helps matters. To speak of „choice“ with an explanatory significance is misleading. The experimental data show that there is selection of food. The point that needs explanation is as to the mechanism of this selection.

Sand (1901) in his excellent monograph of the Tentaculifera, speaks on the subject of selection of food only briefly and from incidental observations. His extensive acquaintance with many species of suctorians and their usual foods, however, has shown him certain factors which bring about an apparent choice. In one of his sections ("Brevipes et longipes", 1901, p. 162) he points out that long-stalked forms are especially adapted for catching free-swimming ciliates, while short-stalked species feed on the hypotricha and similar forms which clamber about on the supports to which the suctorians are attached.

In my opinion, the emphasis should be placed more on the general habit, less on the mere length of the stalk. A short-stalked, elongated species with the tentacles localized near the distal end, (for example, *Discophrya elongata*, see Collin 1912, p. 371, Fig. 97) is as well adapted for catching free-swimming forms as a long-

stalked species. This is merely a slight extension of Sand's own principle.

However, Sand clearly recognised that there were cases which could not be explained on this basis. For such cases he reiterates the hypothesis which he says he first proposed in 1895, which is, to quote his own words (1901, pp. 163—164).

"L'Acinétien reconnaîtrait les Infusoires à leurs mouvements: telle espèce tourbillonne, telle autre se dirige en droite ligne, les cils d'une troisième ont des mouvements ondulatoires spéciaux, etc."

Up to this time all authors attributed the adhesion of tentacle to prey to a viscous secretion or a bit of "naked protoplasm" present at the tip of the tentacle. Collin (1912), however, as previously stated, holds that the adhesion is due to the commencement of the process of suction which normally functions in extracting the protoplasm of the prey. He seems to assume that this process begins when a stimulus is received, caused by contact with any infusorian which is suitable for food. He gives, without offering any explanation, some examples of selection of food which he has observed. He says (1912, p. 253).

"C'est ainsi que *Podophrya fixa* refuse d'une manière absolue, à la fois les Paramécies, les *Colpidium, Cyclidium* et *Glaucoma*, ainsi que les Stentor (*S. polymorphus* de même que *S. coeruleus*) et accepte au contraire avec avidité la plupart des Hypotriches, surtout les *Stylonychia histrio, pustulata* et *mytilus*."

"*Discophrya elongata* qui s'élève très facilement, soit avec des Paramécies, Colpidium ou Glaucoma d'espèces diverses, soit avec des *Stentor* (voir Martin 1909 a) n'accepte pas les Hypotriches et en particulier *Urostyla grandis*."

While one who has never seen either of these organisms has hardly the right to express an opinion, the groups of genera given above are so representative of the free-swimming micro-fauna on the one hand and the crawling forms on the other that it seems highly probable that the explanation here may be on a basis of habit.

My study of the food preferences of *P. collini* has shown that the majority of these can be explained by the factor of habit, together with those of tough cuticular covering or great size or activity on the part of certain immune species. The case of the immunity of the embryos of the same species, however, does not seem to be susceptible of any such explanation. Here some other factors, perhaps chemical in nature, must be assumed.

In other Protozoa. Chance references to selection of food in other protozoa than the suctorians are also very numerous. However, only a few can be mentioned here. The older and more apocryphal tales, such as those of BINET (1888) have been, for the most part, disproved. The phenomena reported by CALKINS in *Actinobolus radians*, however,. are nearly as wonderful as any that have ever been related. CALKINS says (1901 b, p. 50), taking his data from an earlier paper of his own (1901 a).

"When at rest, the mouth is directed downward, and the tentacles are stretched out in all directions, forming a minute forest of plasmic processes, among which smaller ciliates such as urocentrum, gastrostyla etc., or flagellates of all kinds may become entangled without injury to themselves and without disturbing the actinobolus or drawing out the fatal darts. When, however, an Halteria grandinella, with its quick and jerky movements, approaches the spot, the carnivore is not so peaceful. The trichocysts are discharged with unerring aim, and the halteria whirls round in a vigorous, but vain, effort to escape, then becomes quiet, with cilia outstretched, perfectly paralyzed."

This is again quoted by CALKINS in his "Protozoology" (1909, p. 77). At first he seems to have believed, as did SAND in the theory already quoted, that *Actinobolus* can recognize its prey at a distance by its movements. In 1909, however, he adds a statement that "it is much more probable that simple physical or chemical laws of attraction are at the bottom of it all, halteria posessing an attraction for the darts of actinobolus analogous to that between an iron filing and a magnet, or between various chemical elements" (1909, p. 77).

However, Miss MOODY (1912), reinvestigating the case in CALKINS' own laboratory, was unable to corroborate his observations, although the fact of the apparent choice was as distinct as he had reported. She observed no sudden shooting out of either tentacles or trichocysts at the time of seizure, even under an immersion lens. She concludes (1912, p. 372) that.

"It seems probable that the impact of the soft body of Halteria against the dense protoplasm of the tentacle is sufficient to drive the latter into the body of the small ciliate, the trichocyst material, forced either through a minute pore or from the ruptured tip, paralyzing the prey."

No explanation is offered for the definite restriction of its food to the one species, *Halteria grandinella*. It is suggested (p. 396)

that it must be accounted for either "on a basis of chemical or physical laws of attraction, or by assigning to the organism something akin to intelligence."

Mast (1911) has reported definite selection of food particles and rejection of inorganic masses of the same size in the curious ciliate, *Lacrymaria*. In this case, the mechanism of selection was not ascertained.

Mast's results on *Didinium nasutum* (1909) are particularly interesting in this connection, because this predaceous ciliate feeds normally on the same organisms as *Podophrya collini*, that is, on *Paramecium*, *Colpidium*, *Colpoda* etc. He maintains that as the didinia swimming about at random accidentally strike various organisms, some adhere to the seizing organ and others do not. Most of those which adhere are captured and swallowed but some are not. But he finds also, in contrast to what occurs in *P. collini*, that those which are regularly eaten do not always adhere when the didinium strikes them. This apparent selection, he holds, can be accounted for by assuming that the seizing organ sometimes projects slightly and that at other times it is entirely withdrawn, so that it does not come into actual contact when the didinium strikes an organism and consequently does not adhere. According to observations of my own, these two conditions are actually found in specimens of *Didinium* suddenly killed and mounted in dilute glycerine. Other cases of apparent choice are explained by simply assuming that even when the seizing organ is slightly projecting it does not adhere to some species, and that these are consequently rejected.

He lists five genera as eaten (*Paramecium*, *Colpidium*, *Colpoda*, *Vorticella*, *Frontonia*), one as seized but not eaten (*Nassula*), and several others (*Stentor*, *Euglena*, *Spirostomum*, *Loxophyllum*, *Oxytricha*, *Stylonychia*, *Paramecium bursaria*, *rotifers* etc.) as not seized.

In connection with my work on *Podophrya* I have conducted a parallel series of experiments on *Didinium*. I find a very high degree of correlation between its food preferences and those of *P. collini*. To Mast's list of genera eaten I can add one (Bursaria), and to the list of genera not seized five (*Euplotes*, *Chilodon*, *Loxodes*, *Coleps*, *Phacus*). I have also verified his results on nearly all of the forms which he lists. The similarity in diet of these two forms, so entirely different in their seizing mechanisms, while interesting, is probably explicable to a certain degree in that both are adapted to feed on the free-swimming micro-fauna, and that both are unable to pierce the tough cuticles of certain organisms.

Among the most careful work on food-selection in the protozoa that of SCHAEFFER (1910), METALNIKOW (1907, 1912, 1913) and LUND (1914) on various ciliates.

The work of SCHAEFFER is an exceedingly thorough and careful experimental analysis of the selection of food in *Stentor coeruleus*. By feeding the animals (by means of capillary pipettes) with various organisms and inorganic particles, he was able to demonstrate clearly that *Stentor* discriminated between organisms (*Phacus*, *Euglena* etc.) and indigestible particles (carmine, glass, sulphur, starch etc.) with considerable accuracy, and between different kinds of organisms with somewhat less accuracy, eating *Euglena* and *Phacus triqueter* in preference to *Trachelomonas* and *Phacus longicaudis*. The selection was brought about by changes in the beat of the cilia in the pouch and funnel regions. From experiments which showed no discrimination between living organisms and organisms killed in various ways (by heat, alcohol, iodine, osmic acid, mercuric chloride etc.). but did show discrimination when form and texture were changed, SCHAEFFER concluded that the choice was probably made on a tactual, not a chemical basis.

METALNIKOW, in a series of papers (1907, 1912, 1913), has reported experiments on feeding and choice of food in *Paramecium*. By observing the number of vacuoles formed in suspensions of various substances and mixtures of such suspensions, he finds that paramecia form many vacuoles containing non-toxic particles and few containing toxic particles. In one of his most striking experiments (1912, pp. 438—439), paramecia were fed on a mixture of yeast cells stained with thionin (blue, toxic) and congo red (non-toxic). After thirty minutes in the suspension, the paramecia contained, on the average, 4,2 vacuoles containing only red cells (non-toxic), and only 0,4 vacuoles which contained any blue cells (toxic) at all. No vacuoles which contained only blue cells were found. These proportions were approximately the same even if there were five times as many blue cells as red in the suspension. His experiments, in general, show that *Paramecium* can discriminate, apparently by some chemical sense, between toxic and non-toxic particles, whether separate or mixed. It is not necessary, in this connection, to take up his results on learning, which have been disputed.

LUND (1914) has, in essence, repeated METALNIKOW's experiments, using a different species, *Bursaria truncatella*. He fed this form with yolk granules stained with various dyes. If the dyes used

were insoluble in water, no discrimination could be observed. If, on the contrary, the dyes which had been adsorbed by the yolk could be readsorbed by the water of the medium, they were clearly discriminated against, in all the experiments tried. The degree of discrimination depended on some specific property of the dye, as well as on its concentration and its toxicity. For example, yolk stained even very slightly with janus green was practically never eaten, while yolk stained in safranin was always eaten by a few individuals, unless the concentration was so high as to cause death. The toxicity of safranin, however, is greater than that of janus green.

In general, Lund's results confirm those of Metalnikow, but also bring out the important fact that it is not merely the toxicity of a substance which determines its selection or rejection. In other words, there seems to be involved an effect of the specific chemical properties of the substance, comparable, perhaps, to taste in man.

Thus we see, to look at the general results of the study of food selection in the protozoa, that in several examples of that group of ciliates which sweep food into their mouths by means of ciliary currents, a definite selection of non-toxic as opposed to toxic, digestible as opposed to indigestible, or organic as opposed to inorganic particles has been demonstrated. This depends, according to some authors, on chemical, according to others, on physical characteristics.

In predatory forms, however, there are some indications that much of the selection of food is conditioned by external rather than internal factors, although even in these forms there are many cases which are at present inexplicable.

In certain predatory forms, which have not been very extensively studied, there seems to be a very definite restriction of food to certain specific organisms, more or less comparable to the restriction of parasites to definite hosts. No explanation of these phenomena has as yet been given.

Summary.

(1) *Podophrya collini* n. sp. closely resembles *P. sandi* Collin in its adult form, but differs markedly from it in its reproduction and in the form of its embryo.

(2) Reproduction is by semi-internal budding, intermediate in type between true internal budding and the form of reproduction known as semi-external budding in *Paracineta crenata* and *homari*.

(3) Transformation of an entire adult into an embryo takes place regularly as a reaction to entanglement. It is of a type intermediate between the two radically different types of total transformation found in species which reproduce by external budding and internal budding respectively.

(4) The embryo is of the characteristic podophryan type, but differs from any hitherto described (with the possible exception of that of *P. libera*) in that it bears no tentacles at all.

(5) The embryo settles down and metamorphoses into an adult, keeping the same (or more rarely, the reverse) axial relations as in the parent, instead of forming a new axis perpendicular to that of the parent, as is more usual.

(6) *Podophrya collini* feeds normally on *Paramecium aurelia* and *caudatum*. It will also eat *Colpidium*, *Colpoda*, *Glaucoma*, and *Halteria*. It rarely or never eats *Frontonia*, *Bursaria*, *Vorticella*, *Oxytricha*, *Euplotes*, *Stylonychia*, *Loxodes*, *Chilodon*, and *Didinium*, but is able to seize them when it comes in contact with favorable surfaces. It does not seize *Stentor*, *Spirostomum*, *Coleps*, rotifers, worms and flagellates.

(7) This apparent choice of food is considered to be largely dependent on —

a The physical and chemical constitution of the outer surface of certain immune organisms.

b The large size or great activity of certain organisms.

c The characteristic behavior of certain organisms; combined with —

d The characteristic habit of *P. collini*.

Appendix.

Formal description of *Podophrya collini* n. sp.

Adult. Body globular to ovoid, with a slight protuberance at the smaller end, to which is attached a slender stalk. Body bears 30—60 capitate tentacles, irregularly distributed over the entire surface. Average size of body, 40 by 50 μ, average length of stalk,

50 μ. Tentacles one to one and one-half times as long as the body. Body clear and translucent, surrounded by a gelatinous sheath, and containing a single contractile vacuole, a spherical (about 15 μ in diameter) or ellipsoidal (about 10 by 30 μ) macronucleus and 3—12 spherical micronuclei about 2 μ in diameter.

Cyst. Resting cysts formed in situ by the thickening of the gelatinous sheath. Tentacles degenerate to knobs, which, for the most part, remain attached to the cyst.

Embryo. Body flattened and kidney-shaped, about 12 by 35 by 70 μ in size. Anterior lobe larger than the posterior, biconcave in the center. Bears absolutely no tentacles. Ciliated in a band extending around the edges. Contains an ellipsoidal macronucleus and 1—8 micronuclei like those of the adult, also 2—4 small contractile vacuoles.

Reproduction. Embryos are formed semi-internally, provided with cilia, contractile vacuole, and nuclei, but evaginated before the final separation from the parent. In the transformation of entire adults into embryos, the protoplasm flows out of the sheath as an amoeboid mass, draws together into the shape of an embryo, developes cilia and becomes motile.

Food, etc. Normal food, *Paramecium aurelia* and *caudatum*. Also eats *Colpidium*, *Colpoda*, *Glaucoma* and *Halteria*. Locality, ponds in the vicinity of Baltimore, Maryland.

Discussion of Systematic Position. The adult is almost identical with the description of *Podophrya sandi* Collin. The embryo is unlike any described podophryan embryo except perhaps that of *P. libera* as described and figured by Maupas (1876, p. 420 and fig. 4, Plate XVII). Nevertheless it is evidently podophryan in its affinities. The method of reproduction is unlike any previously described and most resembles that found in Paracineta homari, crenata, or perhaps limbata. Because of its many resemblances to species of that genus, it has seemed best to refer the new species to the genus *Podophrya* Ehrbg., which must now be considered as a genus analogous to *Paracineta* in containing forms which show transitional conditions between external and internal budding, as well as species with true external budding.

Literature cited.

BINET, ALFRED (1888): The Psychic Life of Micro-organisms. Open Court Pub. Co., Chicago. 120 pp.

BÜTSCHLI, O. (1889): Protozoa (in BRONN's Klassen u. Ordn. des Tierreichs Bd. 3). Suctoria p. 1842—1945.

CALKINS, GARY N. (1901a): Some Protozoa of Especial Interest from Van Cortlandt Park, New York. Amer. Nat. Vol. 35 p. 645—658.

— (1901b): The Protozoa. Macmillan & Co., New York. 347 pp.

— (1909): Protozoology. Lea & Febiger, Philadelphia. 349 pp.

COLLIN, BERNARD (1911): Étude Monographique sur les Acinètiens. I. Recherches expérimentales etc. Arch. d. Zool. expér. Ser. 5 T. 8 p. 421—497.

— (1912): Étude Monographique sur les Acinètiens. II. Morphologie, Physiologie, Systématique. Arch. d. Zool. expér. Ser. 5 T. 51 p. 1—457.

DANGEARD, P. A. (1890): Les Acinétes. Le Botaniste Vol. 2.

ENGELMANN, TH. W. (1876): Über Entwicklung und Fortpflanzung der Infusorien. Morphol. Jahrb. Bd. 1 p. 573—634.

LUND, E. J. (1914): The Relations of Bursaria to Food. I. Journ. Exper. Zool. Vol. 16 No. 1 p. 1—52.

MARTIN, C. H. (1909): Some Observations on Acinetaria. II. The "Tinctin-körper" of Acinetaria and the Conjugation of Acineta papillifera. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 53 p. 351—389.

MAST, S. O. (1909): The Reactions of Didinium nasutum (STEIN) with especial reference to the feeding habits and the function of Trichocysts. Biol. Bull. Vol. 16 No. 3 p. 91—118.

— (1911): The Habits and Reactions of the Ciliate, Lacrymaria. Journ. An. Beh. Vol. 1 No. 4 p. 229—243.

MAUPAS, E. (1876): Sur l'organisation et le passage à l'état mobile de Podophrya fixa. Arch. d. Zool. expér. Ser. 1 T. 5 p. 401—428.

— (1881): Contributions à l'étude des Acinètiens. Arch. d. Zool. expér. Ser. 1 T. 9 p. 299—368.

METALNIKOW, S. (1907): Über die Ernährung der Infusorien und deren Fähigkeit, ihre Nahrung zu wählen. Trans. Soc. Imp. Nat. St. Petersburg Vol. 29 p. 181—187.

— (1912): Contributions à l'étude de la digestion intracellulaire chez les Protozoaires. Arch. d. Zool. expér. Ser. 5 T. 9 p. 373—499.

— (1913a): C. R. Soc. Biol. Paris T. 74 p. 701—703.

— (1913b): C. R. Soc. Biol. Paris T. 74 p. 704—705. Reviewed in Journ. Roy. Micr. Soc. Aug. 1913 part 4 p. 389.

Moody, J. E. (1912): Observations on the Life History of Two Rare Ciliates, Spathidium spathula and Actinobolus radians. Journ. Morph. Vol. 23 p. 349—407.

Sand, René (1901): Étude Monographique sur le groupe des Infusoires tentaculifères. Extrait des Annales de la Soc. Belge de Microscopie T. 24, 25, 26. Bruxelles (Alfred Castaigne). 441 pp.

Schaeffer, Asa A. (1910): Selection of Food in Stentor coeruleus. Journ. Exp. Zool. Vol. 8 p. 75—132.

Kleinere Mitteilungen.

On the occurrence in certain cases of a definite transmissive phase of a Trypanosome in the Vertebrate host.

By
H. M. Woodcock, D. Sc.
(Lister Institute of Preventive Medicine).

In a PAPER on "Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen, T. II", recently published in this Journal (Vol. 34 1914 p. 311), NÖLLER has written a few remarks, under the heading "In welchem Infektionsstadium der Ratte infizieren sich die Flöhe am leichtesten mit Rattentrypanosomen?", upon the question of the occurrence of a particular transmissive phase, from the Vertebrate to the Invertebrate host, in Trypanosomes generally. NÖLLER says that, since SCHAUDINN's inaccurate account of the Trypanosome-parasites of the Little Owl, not much attention has been paid to this important subject. NÖLLER appears to be entirely unaware that MINCHIN and I., in our account of *Trypanosoma noctuae* of the Little Owl, which was published in 1911 (Quart Journ. Micr. Sci. Vol. 57 p. 141), shewed clearly that, in the case of this parasite, there is a characteristic and distinctive form which is the transmissive phase, passing intho the mosquito and there initiating the other half of the life-cycle. This type is a small or medium-sized, stout spindle, quite different from any of the other forms of the parasite; it is present, alone, in the peripheral circulation, during the early summer months. Further, as was pointed out in that paper, I had previously found a quite similar state of affairs in another Avian Trypanosome, *Trypanosoma fringillinarum,* though I lacked at that time sufficient evidence from which to draw any definite

conclusion with regard to the significance of this form. From these two observations, it may probably be concluded that the development of this special transmissive form, to pass into the Insectan host, is a regular feature among Avian Trypanosomes. To the best of my recollection I sent NÖLLER a reprint of our memoir referred to; and the point is also specially mentioned in MINCHIN's book on the Protozoa (p. 297). It might have been expected, therefore, that in a summary of the knowledge obtained up to the present upon this important subject, our observations, which are the first definitely shewing the occurrence of such a phase in the Vertebrate host, would have received notice. Since then (as is mentioned by NÖLLER) Miss ROBERTSON has found that a corresponding phase occurs also in *Trypanosoma gambiense*. A definite transmissive form, from the Vertebrate to the Invertebrate host, may also be found, therefore, among the Trypanosomes of other groups of Vertebrates; although, for instance, in spite of many observations, such a form has not been distinguished in *Trypanosoma lewisi*.

30. 6. 1914. H. M. W.

Mitteilung der Malaria-Kommission in Rußland.

Die Kommission für das Studium der Malaria in Rußland bei der Gesellschaft Russischer Ärzte zum Andenken an N. L. PIROGOW ist gegenwärtig im Begriff ein Verzeichnis der russischen Literatur über die Malaria bis zum Jahre 1913 inklusive zu beendigen.

In der Folge werden derartige Verzeichnisse mit kurzen Referaten der einschlägigen Artikel alljährlich erscheinen, wobei sie nach Möglichkeit die gesamte Literatur über die Malaria für das verflossene Jahr umfassen werden.

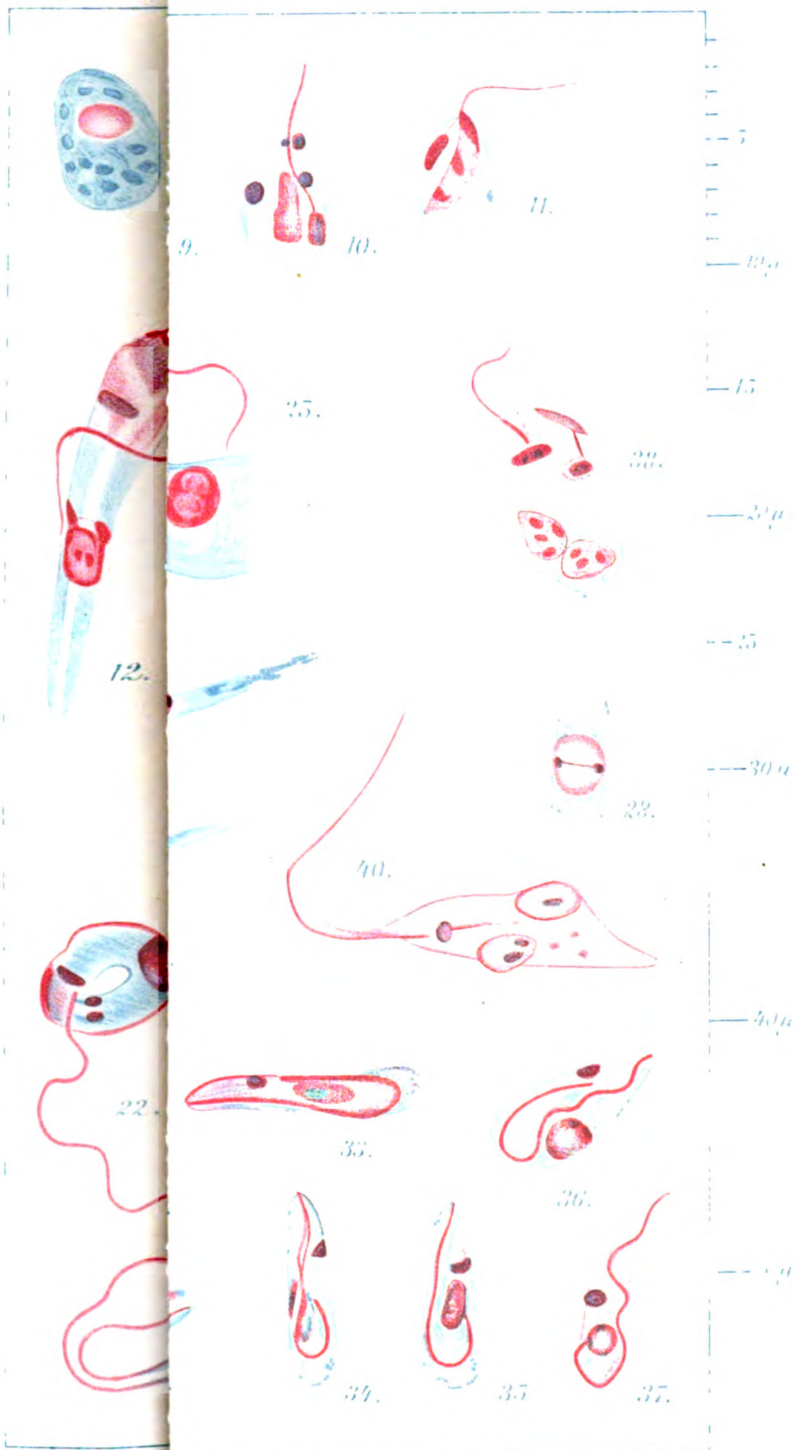
Außerdem wird die Kommission in kurzer Zeit besondere Kompendien über die Leishmaniose, die Piroplasmose und andere protozoische Erkrankungen herausgeben.

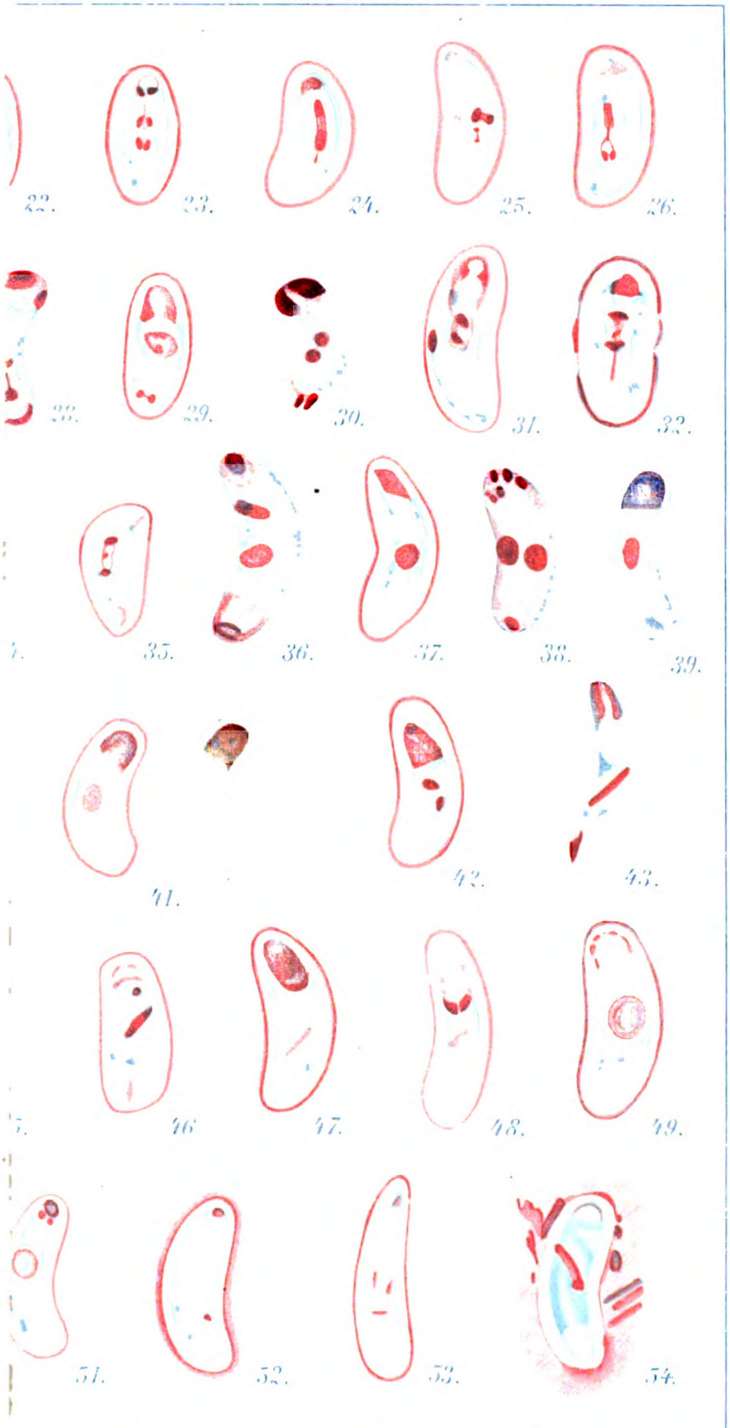
Infolgedessen wendet sich die Kommission an die Verfasser von Artikeln über die erwähnten Branchen der Medizin, der Veterinärkunde und der Phytopathologie mit der inständigen Bitte die Abdrücke ihrer Schriften an die Kommission einsenden zu wollen.

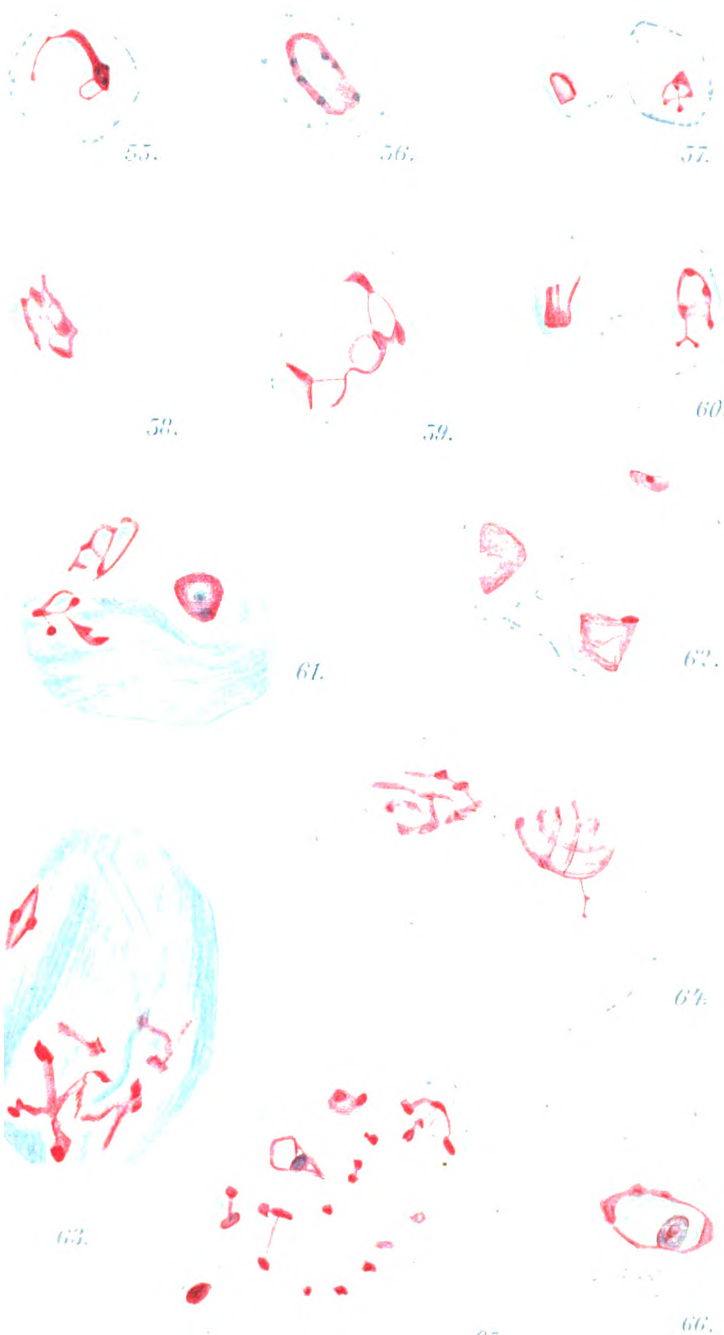
Diejenigen Autoren, die ihre Schriften der Kommission in zwei Exemplaren zusenden werden, erhalten von der Kommission die von ihr ausgegebenen bibliographischen Verzeichnisse zugeschickt.

Adresse:
Moskau, Powarskaja, 10, Bibl. der Malar.-Kommission (Rußland).

Vorsitzender der Kommission
Dr. E. MARZINOWSKY.

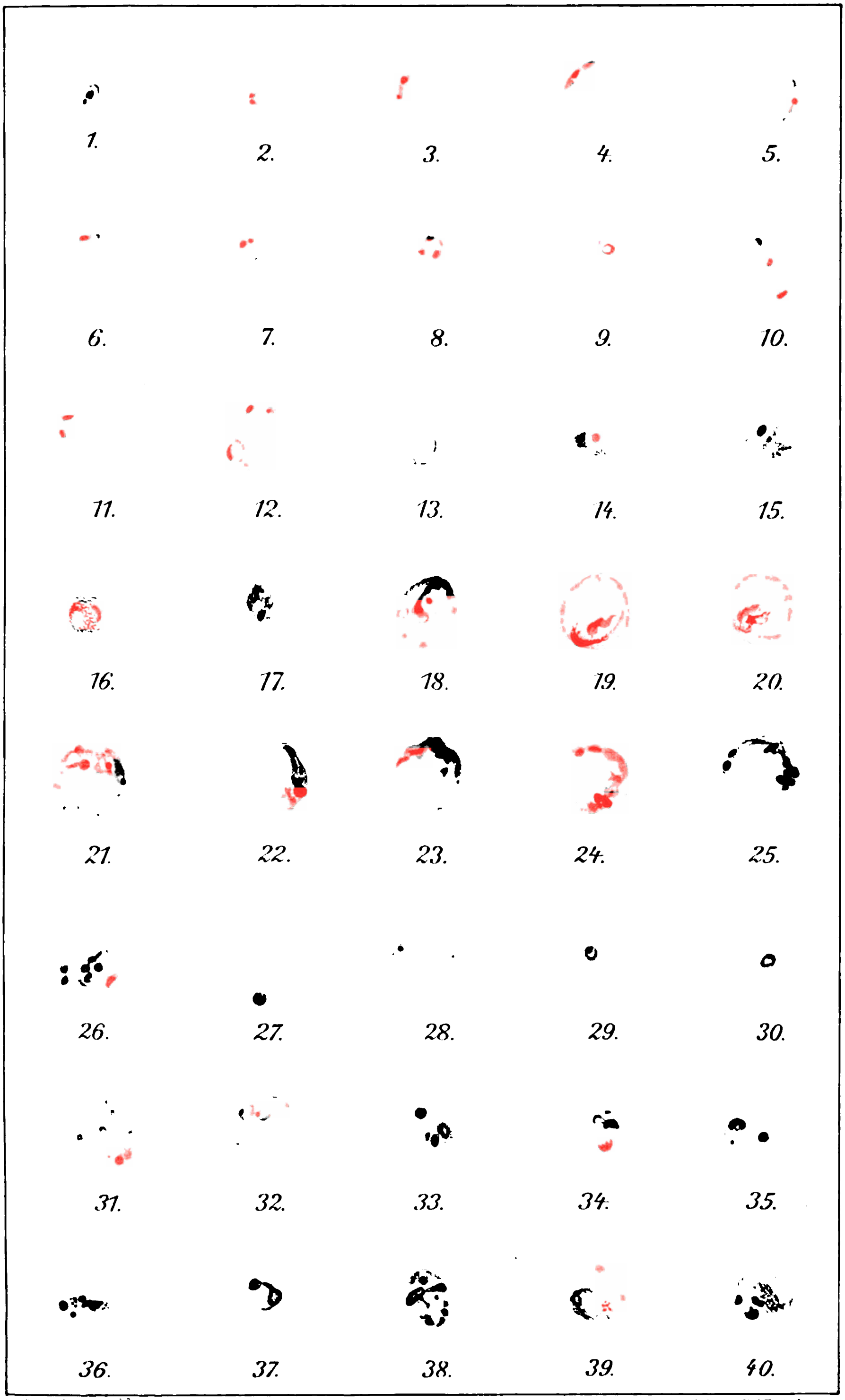



22.
23.
24.
25.
26.
28.
29.
30.
31.
32.
35.
36.
37.
38.
39.
41.
42.
43.
46.
47.
48.
49.
51.
52.
53.
54.



Gust v Fischer

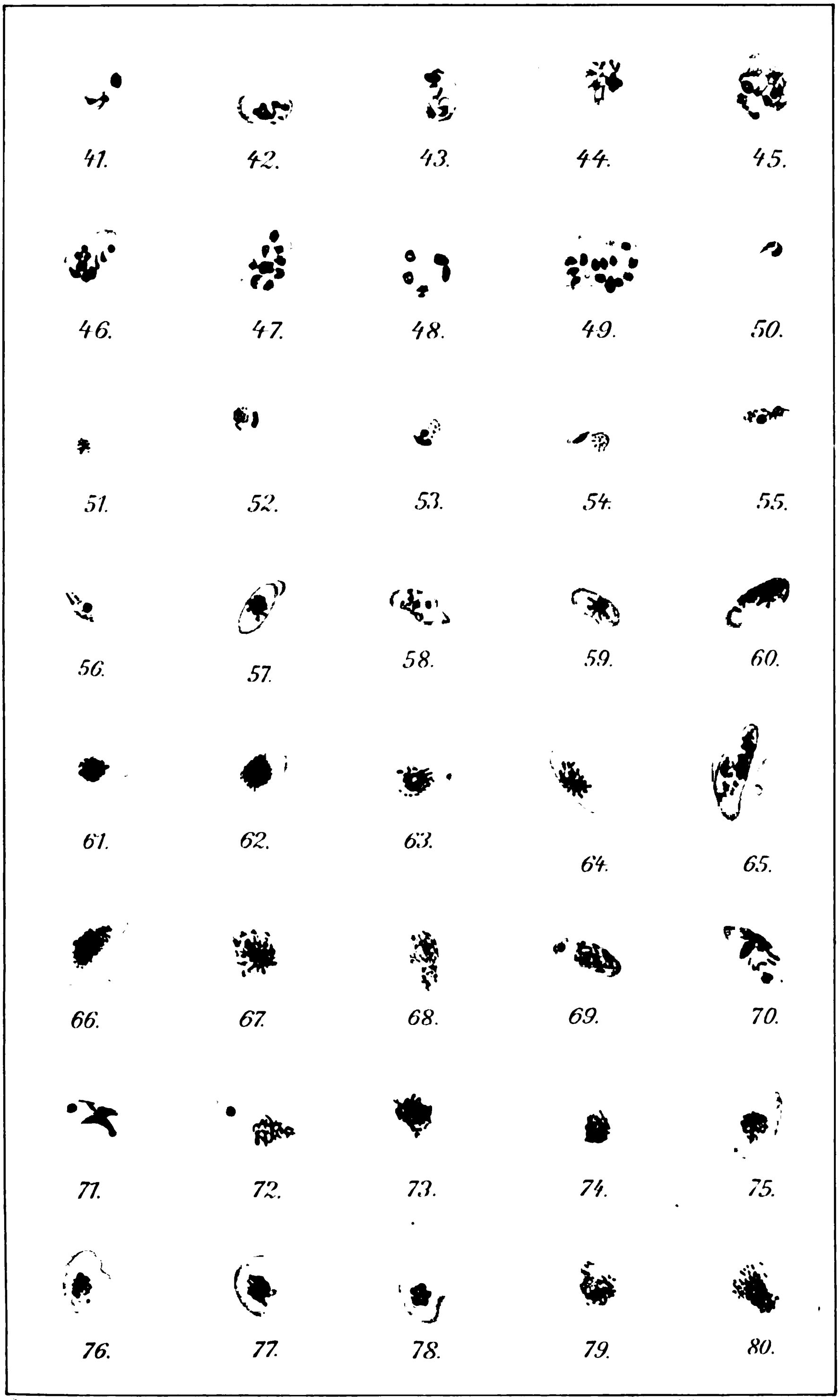
octospora u. Monospora.



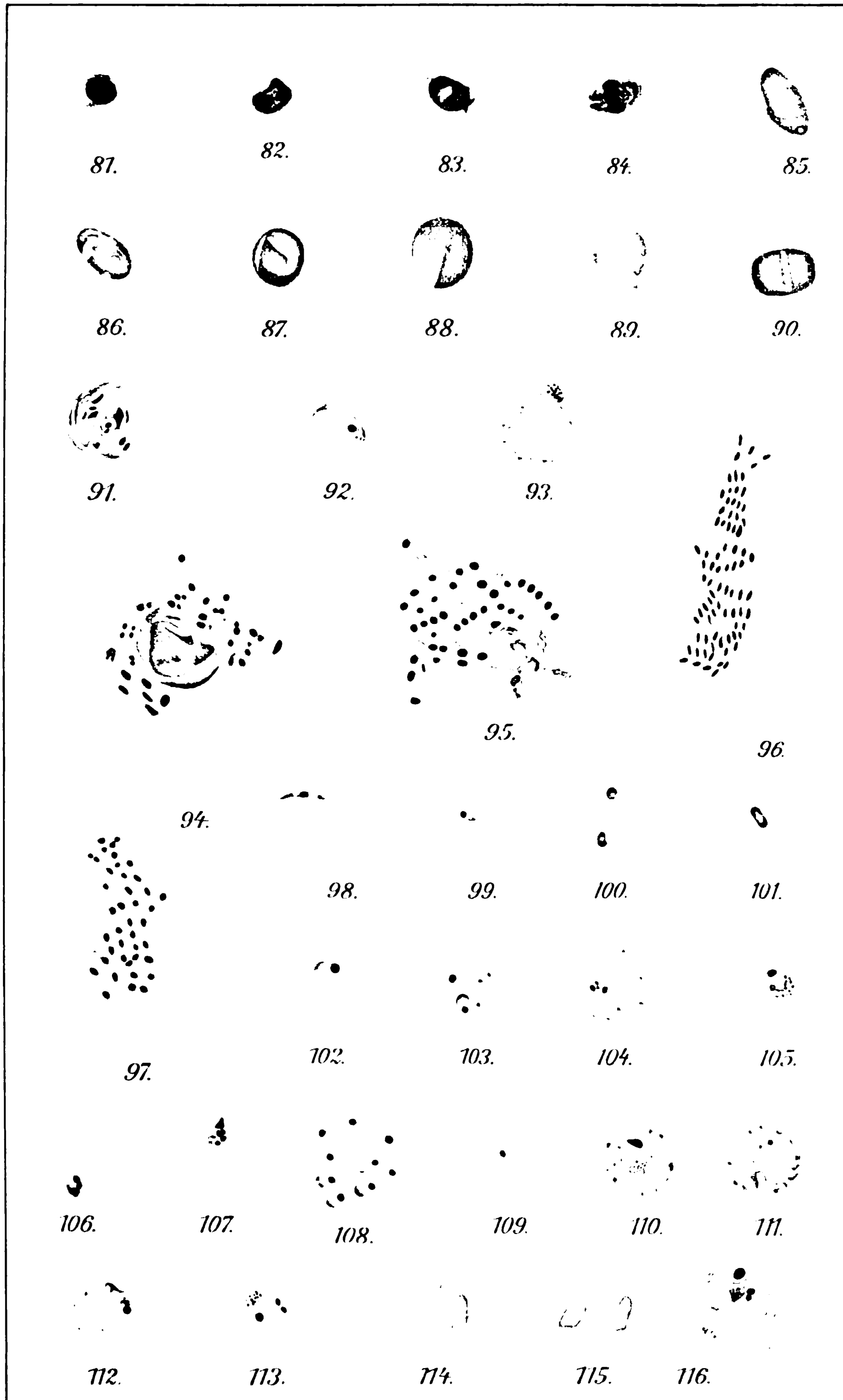
G. Perekropoff gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

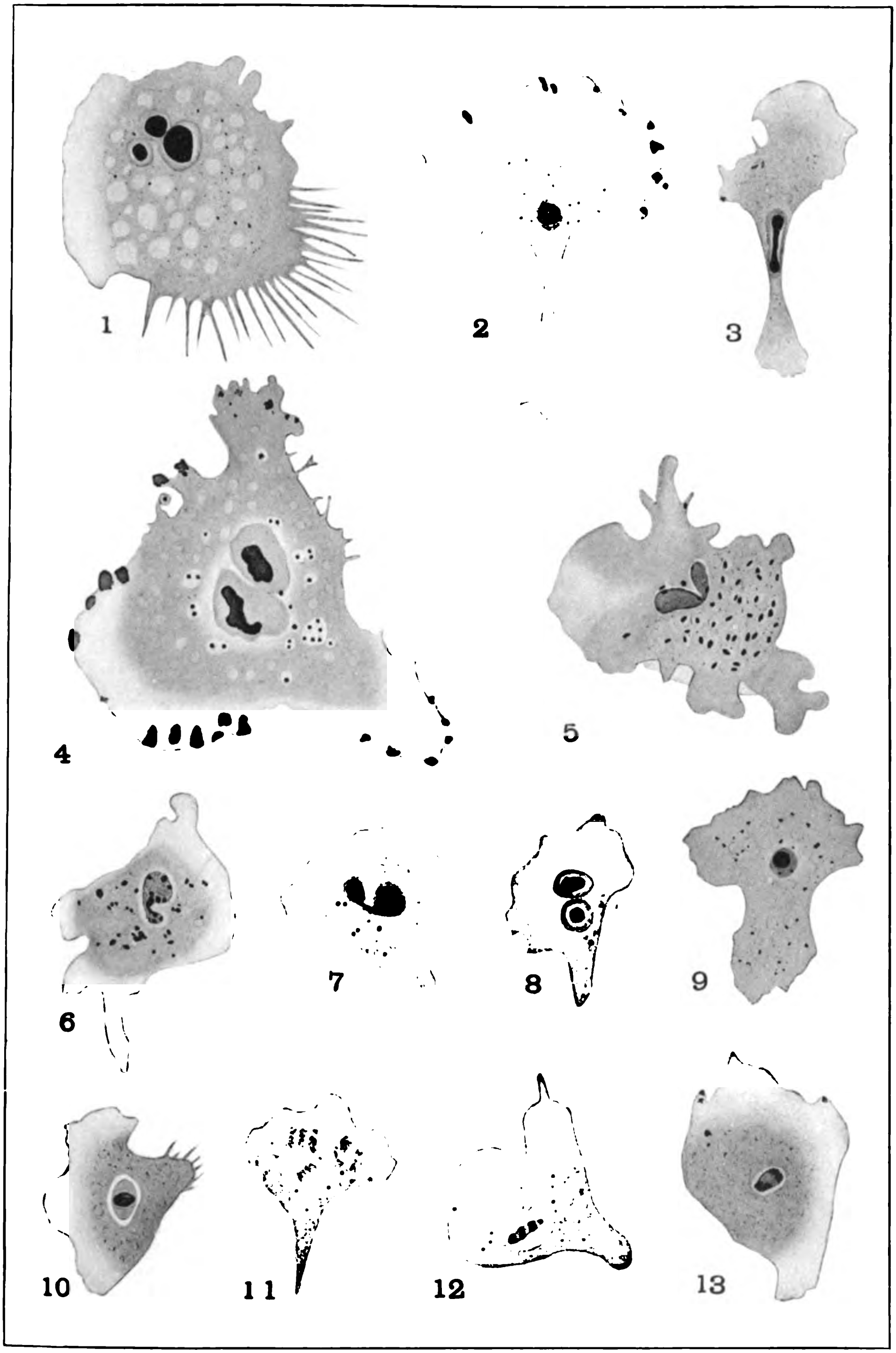
Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.



G. Perekropoff gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig

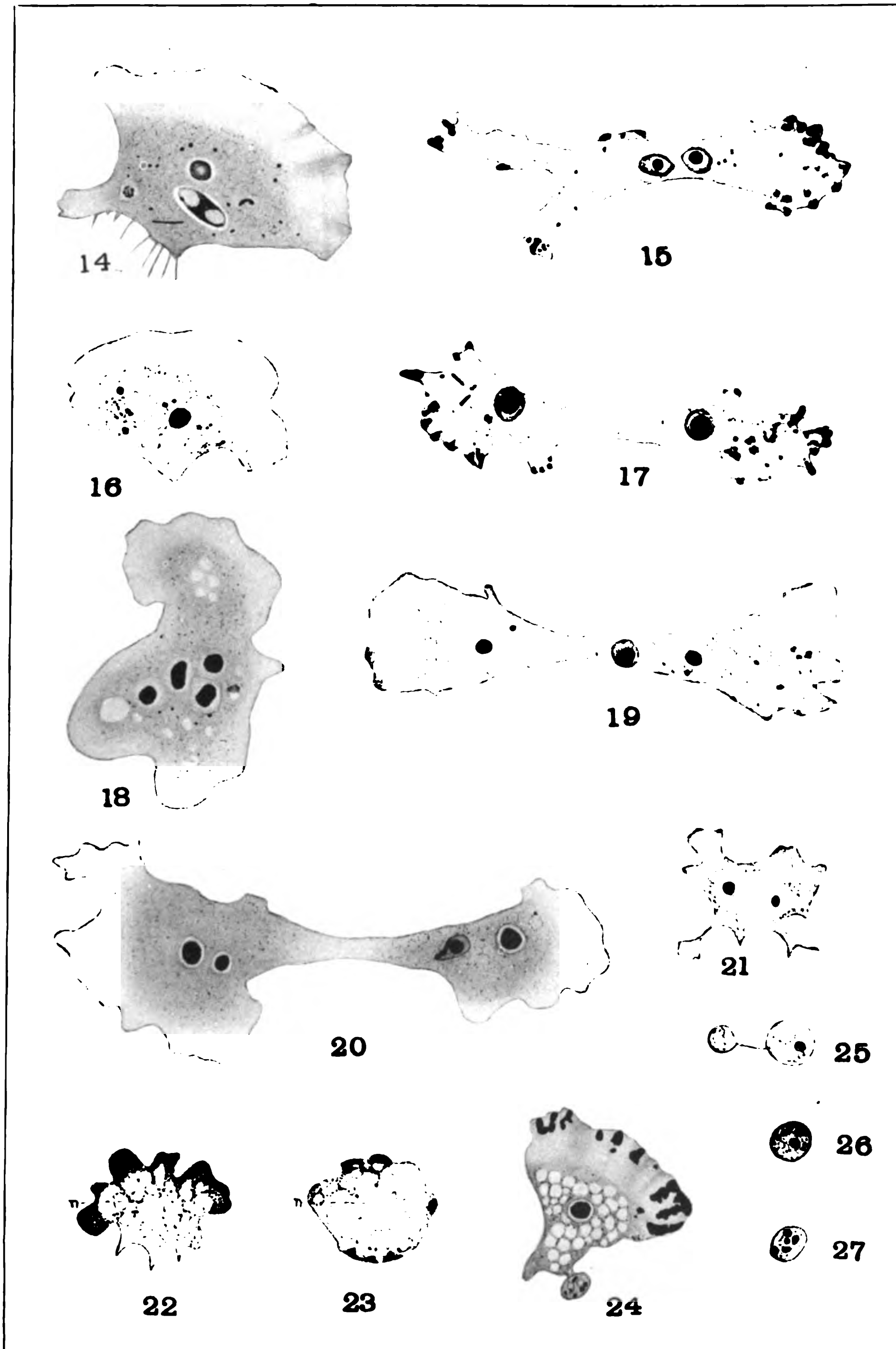


G. Ferekropon gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig



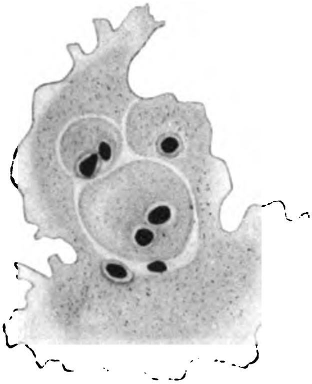
Hogue. J. B. Obernetter, München, reprod.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Hogue. J. B. Obernetter, München, reprod.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



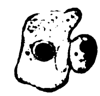
28



29



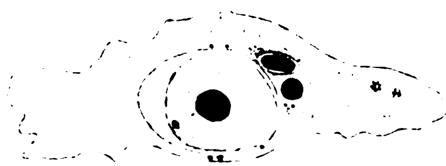
30



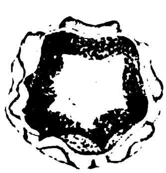
31



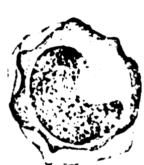
32



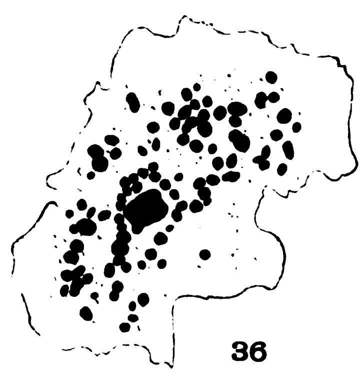
33



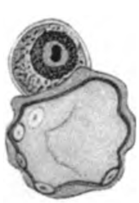
34



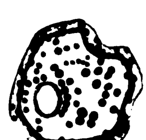
35



36



37



38



39



40

Hogue. J. B. Obernetter, München, reprod.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Etude sur *Spirocystis nidula* Lég. et Dub. Schizogrégarine du *Lumbriculus variegatus* Müll.

Par

L. Léger et O. Duboscq.

(Avec Planche 19 et 4 figures dans le texte.)

Avant-Propos.

Hôte et répartition du Parasite.

Nous avons désigné (Bull. Soc Zool. de France. Juin 1911) sous le nom de *Spirocystis nidula*, un Sporozoaire s. st. que nous avons rattaché aux Schizogrégarines et dont nous avons déjà indiqué les principaux caractères dans une note récente (1914).

Dans la présente étude nous nous proposons de préciser, par une description accompagnée de figures, la morphologie et la structure des divers stades de ce parasite, d'essayer de reconstituer son évolution que nous n'avons malheureusement pu suivre sans lacunes, et enfin de discuter ses affinités et sa position systématique dans les Schizogrégarines.

Si nous publions aujourd'hui nos observations encore incomplètes, c'est que, pour le moment du moins, nous ne sommes plus en mesure de les compléter. Ce parasite se rencontrait, il y a 6 ans, assez fréquemment chez les *Lumbriculus* provenant d'un petit ruisseau situé à Domène près Grenoble, tandis que nous le cherchions en vain ailleurs. Depuis cette époque, il reste introuvable dans la

seule station qui le fournissait, alors que les *Lumbriculus* y sont toujours présents.

Spirocystis nidula est une Schizogrégarine monosporée et monozoïque dont les divers stades infestent les parties les plus différentes du corps de son hôte: cavité intestinale, épithélium intestinal, cellules chloragogènes, cavité générale, muscles somatiques, système nerveux et, fait intéressant, l'épiderme même.

Dans ces différents tissus ou organes, les stades évolutifs du parasite ne sont pas répartis indifféremment. Les cellules chloragogènes contiennent seules les sporocystes mûrs et les éléments qui nous semblent devoir les former. Dans la cavité générale et surtout dans le sarcoplasme de la couche musculaire pariétale, on ne voit communément que des schizontes vermiculaires. Sporocystes et schizontes vermiculaires ne paraissent exister ni dans l'épithélium intestinal ni dans l'épithélium tégumentaire qui, par contre, sont farcis soit d'éléments falciformes, soit d'éléments ovoïdes, parfois isolés, mais le plus souvent groupés en nichée. Ces parasites épithéliaux sont rejetés au dehors par la dégénérescence des cellules hôtes: ceux de l'épithélium intestinal tombent dans l'intestin, tandisque ceux de l'épiderme sont rejetés à l'extérieur. Nous décrirons successivement ces divers stades.

Sporocystes.

Les sporocystes, toujours isolés, et rappelant beaucoup par leur aspect, les *Nematopsis* (spores de *Porospora* des Lamellibranches), ne se rencontrent que dans les cellules chloragogènes. Ils sont ovoïdes ou piriformes avec un pôle antérieur ou micropylaire plus pointu que le pôle postérieur. Leur paroi est remarquable par son épaisseur. Ainsi pour un sporocyste dont le grand axe est de 35 μ, la cavité interne mesure à peine 22 μ dans son plus grand diamètre. Cette paroi est formée d'une endospore régulièrement mince et d'une très épaisse épispore, transparente à l'état frais. Celle-ci, à son tour, se décompose en une couche externe dense et mince, qui se fripe sous l'action des fixateurs et en une couche interne épaisse, hyaline, qui parait plus condensée dans la profondeur à en juger par l'intensité de la coloration (fig. 17 Pl. 19).

Au voisinage du micropyle, des stries radiaires assombrissent la grande transparence de cette enveloppe d'aspect gélatineux. Le canal micropylaire paraît bien intéresser l'endospore et mettre directement la cavité de la spore en communication avec l'extérieur,

mais l'observation sur le vivant montre (fig. 16 Pl. 19) qu'un petit bouchon trilobé obture, par un de ses prolongements, l'orifice interne du canal micropylaire.

Le sporocyste contient, d'une façon constante, un seul long sporozoïte replié deux fois sur lui-même et un petit reliquat globuleux de 2 à 3 μ de diamètre. Le sporozoite est donc un vermicule relativement très grand puisqu'il atteint près de 40 μ. Son cytoplasme sans inclusions, est chargé de très fines granulations colorables. Vers le tiers antérieur du corps, se trouve le noyau sphérique, presque aussi large que le vermicule. Sur sa membrane mince, sont appliqués quelques karyosomes périphériques, tandis que vers le centre, un vrai nucléole est suspendu dans le suc nucléaire. Ainsi par toute sa morphologie et sa structure, le sporocyste de *Spirocystis* rappelle celui des *Nematopsis*.

La forme des sporocystes est quelque peu variable, les uns étant plus allongés que les autres et montrant alors une épaisseur plus grande de la région micropylaire. Mais leur structure nous apparaît constante, d'autant plus que nous les trouvons toujours mûrs et que nous n'avons pu suivre exactement leur développement. Cependant, dans les cellules chloragogènes, nous avons rencontré, soit de gros éléments ovoïdes isolés qui repésentent, pensons-nous, des macrogamètes, soit deux éléments accolés dont l'un, semblable au précédent, serait le macrogamète et l'autre, plus petit, falciforme, représenterait l'élément mâle (fig. 6 Pl. 19). Ces gamètes proviennent sans doute des nichées que nous décrirons plus loin dans l'épithélium, mais que l'on rencontre aussi dans la couche chloragogène. Notons également, que nous avons observé dans cette même couche, un stade qui représente peut-être, la formation du sporocyste. C'est un élément uninucléé, ovoïde, ressemblant à un macrogamète, mais qui serait une copula et se transformerait en un vermicule par la formation d'une grosse vacuole excentrique. Il est en outre entouré par une coque de deux cellules aplaties en écaille d'oignon (fig. 15 Pl. 19). Ces cellules sont-elles des résidus de gamontes comme dans *Ophryocystis*, ou simplement des phagocytes qui déterminent une dégénérescence dont la vacuolisation est le premier stade? Nous ne pouvons nous prononcer sur ce point, car nous n'avons pas observé la copulation.

Nous pouvons seulement affirmer que les sporocystes sont toujours isolés et ne contiennent qu'un seul germe vermiculaire, de sorte que, si notre interprétation est exacte, la copula du *Spirocystis* ne donne qu'un seul sporocyste monozoïque.

Schizontes vermiculaires.

Les schizontes vermiculaires se rencontrent communément dans le péritoine somatique ou viscéral. Nous ne les avons jamais rencontré ni dans l'épithélium intestinal ni dans l'épiderme, mais nous avons trouvé une fois un jeune schizonte situé dans un ganglion nerveux dont le neuropile était comprimé et partiellement détruit (fig. A texte).

Les schizontes vermiculaires du péritoine, enroulés en crosse ou en spire, sont tous enkystés dans une cellule ou dans un syncytium qui forme autour d'eux une mince membrane d'enveloppe. Le kyste paraît du à la réaction et à la transformation de cellules péritonéales, ainsi qu'on le voit très bien dans le péritoine viscéral c'est-à-dire dans les cellules chloragogènes où les réactions kystiques contiennent encore les sphérules jaunes, caractéristiques de ces cellules (fig. 14 Pl. 19).



Fig. A.
Coupe de la moelle ventrale de *Lumbriculus variegatus* montrant un schizonte vermiculaire de *Spirocystis* au centre du neuropile. × 850.

Les plus petits schizontes vermiculaires que nous puissions observer, mesurent 17 μ de longueur [1]) et n'ont qu'un seul noyau situé vers le milieu du corps du côté concave. A ce stade jeune, l'organisme est déjà fortement arqué et trapu (fig. 1 Pl. 19). Une des extrémités plus effilée que l'autre est légèrement déjetée et se prolonge en un appendice, qui, d'abord conique, s'effile pour se terminer en se renflant en un bouton aplati. Par analogie avec la structure des Sporozoaires les plus comparables tels que *Selenococcidium* et *Siedleckia*, on peut penser que cette extrémité pointue est la postérieure, mais nous n'en avons pas la preuve, l'animal nous ayant toujours paru immobile.

L'extrémité opposée plus fortement recourbée, paraît plus obtuse et dépourvue de tout appendice. Le cytoplasme très clair, ne

[1]) C'est la plus grande longueur de l'animal non redressé et inférieure par conséquent à celle du grand axe du corps.

présente pas d'inclusions. Le noyau, à contour ovoïde, limité par une membrane à peine différenciée, montre, dans son suc nucléaire clair, quelques rares grains de chromatine et déjà deux karyosomes, indice d'une division nucléaire.

Nous n'avons pu rencontrer d'une façon certaine le vermicule à noyau unique au repos, c'est-à-dire pourvu d'un seul karyosome.

Le parasite va maintenant grandir en multipliant ses noyaux et nous avons souvent observé le stade à deux noyaux qui suit immédiatement le précédent, ceux-ci étant encore contigus au milieu du bord concave (fig. 2 Pl. 19). Multiplication nucléaire et croissance continuent et dans les stades plurinucléés où le parasite s'enroule en hélice, nous avons observé la division du noyau qui s'effectue suivant le type bien connu de la promitose. Le nucléolo-centrosome toujours situé au centre de la figure de division s'allonge en corps baccilliforme renflé aux deux extrémités, pendant que le noyau en biscuit, s'étrangle comme dans une simple amitose (fig. 3 Pl. 19) les grains chromatiques ne changeant pas d'aspect au cours de la division.

A la fin de la multiplication nucléaire, les schizontes aplatis et fortement enroulés en hélice au point de simuler si l'on n'est prévenu, des éléments massifs discoïdes, mesurent 35 μ dans leur plus grande longueur (le corps n'étant pas supposé redressé (fig. 4 Pl. 19). Les noyaux nombreux sont régulièrement répartis dans toute la masse; ils sont toujours sphériques, à membrane mince, avec un karyosome central et des grains de chromatine assez également distribués. Le cytoplasme alvéolaire se charge de fins grains chromatoïdes qui méritent le nom de grains chromidiaux, car ils paraissent provenir du noyau. A mesure que la zone chromidiale périnucléaire s'enrichit en grains, le noyau devient plus clair. Vers la fin de l'évolution, les fins grains chromidiaux sont remplacés par des grains plus gros, souvent bacilliformes, et fortement colorables par l'hématoxyline ferrique (fig. 4 Pl. 19). Ils sont peut-être de valeur mitochondriale; mais nous ne les avons pas étudiés par les méthodes appropriées. Puis le cytoplasme se contracte autour de chaque noyau, formant une sorte de tissu réticulé dans lequel les éléments étoilés sont anastomosés par leurs prolongements.

Nous n'avons pu suivre rigoureusement le processus de l'individualisation des schizozoïtes. Ils s'isolent sans doute par la rétraction de plus en plus grande des éléments étoilés avec disparition finale des anastomoses. On aurait ainsi le stade dans lequel le schizonte est rempli de schizozoïtes globuleux ou ovoïdes uninucléés, agglomérés

dans une sorte de gangue résultant vraisemblablement de la gélification du corps maternel.

Il n'est pas rare de trouver des schizontes dont les noyaux fortement hypertrophiés avec chromatine appliquée sur la membrane sous forme de plaques ou de bandes fissurées sont remplis d'un suc nucléaire représenté par de fines granulations sur les pièces fixées. Le cytoplasme est très clair et plus aqueux que dans les schizontes ordinaires. Il s'agit là, sans doute, d'états pathologiques ou de dépression, comme en rencontre chez les Ciliés et chez les Héliozoaires, et survenant dans des conditions difficiles à préciser, puisqu'ils frappent seulement certains individus à côté d'autres qui restent normaux. Le plus communément, ces vermicules en dégénérescence n'ont qu'un noyau énorme (fig. B texte). Mais on rencontre aussi des parasites chez lesquels seule une région très limitée est atteinte de dégénérescence, de sorte qu'un champ restreint montrera quelques noyaux hypertrophiques et un plasma clair tandis que les autres noyaux conservent la dimension et la structure normales. Ces sujets peuvent-ils poursuivre leur schizogonie? Ceci reste douteux. En tout cas, il semble bien que ceux qui n'ont qu'un seul noyau hypertrophique soient destinés à périr.

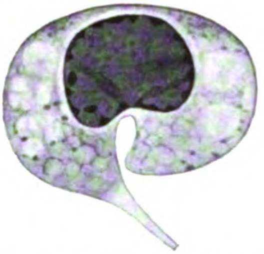


Fig. B. *Spirocystis nidula*. Schizonte vermiculaire uninucléé en état de dépression. × 1800.

Gamètes.

A côté des schizontes vermiculaires se rencontrent des nichées d'éléments qui évoluent et se différencient sur place en deux sens différents. Ces nichées, très communes à la fois dans l'épiderme et dans l'épithélium intestinal, se trouvent aussi dans les cellules chloragogènes. Les éléments qui les composent, diffèrent de bonne heure entre eux non-seulement par leur taille, mais encore par l'aspect de leur cytoplasme.

Les uns sont fusiformes ou ovoïdes. Ils ne dépassent jamais 7 μ de long sur 3 μ de large. Leur cytoplasme alvéolaire, à grandes mailles reste clair et le noyau, assez petit (2 μ), est pourvu d'un nucléole et de fins grains de chromatine. Nous les considérons comme microgamètes.

Les autres, que nous interprétons comme macrogamètes, sont, au contraire, toujours largement ovoïdes ou même globuleux et

atteignent jusqu'à 11 μ. Leur noyau, placé vers le centre, est sphérique avec un gros nucléole central et des grains chromatiques périphériques. Leur cytoplasme est très caractéristique. Dense, fortement colorable, il est imprégné de bonne heure de grains sidérophiles, peut-être de valeur mitochondriale. Ils semblent en effet, en s'alignant et se soudant, donner naissance à des filaments également sidérophiles qui seraient des chondriocontes et qui se présentent sous une forme très curieuse. Tantôt on voit un long cordon plusieurs fois replié sur lui-même ou enroulé comme un spirème autour du noyau (fig. 10 et 11 Pl. 19). Tantôt et le plus souvent il y a plusieurs filaments en V disposés comme des chromosomes en fuseau et donnant l'impression d'une mitose mitochondriale (fig. 12 Pl. 19). Comme les filaments ressemblent à des chondriocontes, on pourrait attribuer à des figures de division les dispositions qu'ils prennent.

On appuierait cette interprétation sur les images de la division des mitochondries que Benda, Meves, Duesberg, dans leurs travaux classiques ont représenté dans les spermatocytes des insectes, et qui peuvent se rencontrer aussi dans les mitoses des ovocytes à en juger par les figures données par Ch. Perez (1907a) pour l'œuf du Branchellion.

Sans rejeter définitivement cette interprétation, elle nous parait peu fondée. Remarquons d'abord que cette pseudo-mitose mitochondriale existerait autour d'un noyau parfaitement au repos dans une cellule qui n'a pas toujours terminé sa croissance, ce qui doit déjà nous paraître bien suspect, puisque, autant qu'on le sait, la division fusoriale des mitochondries accompagne toujours la division nucléaire. Contre ce fait général on n'objectera pas le cas du spermatocyte II des Hyménoptères (Meves, Duesberg) où le noyau reste au repos pendant que les mitochondries se divisent seules puisqu'il s'agit là manifestement d'une division avortée et anormale. En étudiant avec soin le macrogamète de *Spirocystis*, on constate que, sauf quelques cas douteux, où les filaments ont peut-être chevauché artificiellement (cas du pseudo-spirème (fig. 11 Pl. 19), l'image pseudomitotique est presque toujours la même (fig. 8, 9, 12 Pl. 19). C'est un fuseau avec des anses anaphasiques et dont la forme très particulière, est justement celle du macrogamète. Celui-ci n'est pas un ovoïde régulier, mais une lentille plan-convexe, forme dérivée de celle d'un croissant par l'atténuation de la surface concave. Le fuseau sidérophile reproduit cette forme. Il nous montre un premier plan superficiel parallèle à la face plane du macrogamète et un système de fibres courbes parallèles à la face

convexe (fig. 8 Pl. 19). Une telle disposition conduit à penser que nous avons affaire ici à une sorte de squelette cellulaire et par conséquent, à des formations fibrillaires analogues à celles que Koltzoff (1906) nous a fait connaître dans les cellules des Métazoaires. Cela n'infirmerait pas d'ailleurs leur origine mitochondriale. On peut penser encore à une formation homologue à l'appareil réticulaire.

Quoiqu'il en soit, on ne pourra se prononcer en toute certitude sur sa valeur que par la connaissance de l'évolution de l'élément que nous considérons comme macrogamète.

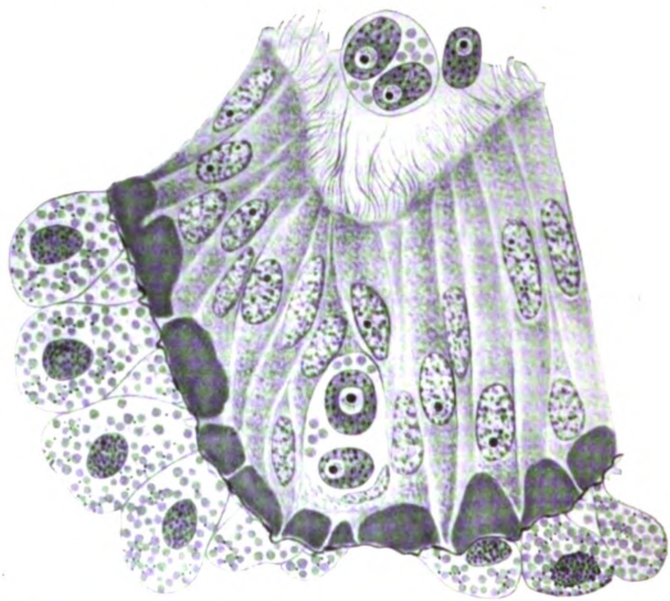


Fig. C. Epithélium intestinal de *Lumbriculus* avec gamètes dans une cellule et dans la lumière. × 850.

Les nichées renferment les deux sortes d'éléments, micro- et macrogamètes, en quantité variable: les unes en contenant trois ou quatre, les autres une douzaine et plus. Fait remarquable, dans une seule et même nichée, ces éléments sont souvent à des stades de développement différents (fig. 5 et 7 Pl. 19).

Ainsi que nous l'avons dit plus haut, on observe surtout ces nids de gamètes dans l'épithélium intestinal et dans l'épiderme. Ceux de l'épithélium intestinal se font jour dans la lumière du tube digestif où l'on trouve fréquemment libres les micro- et macrogamètes, sans pouvoir observer les stades ultérieurs de leur évolution (fig. C texte).

Nous ne pouvons suivre davantage le sort des parasites rejetés, par la voie épidermique, à l'extérieur, c'est-à-dire dans l'eau et nous pouvons tout au plus observer leur expulsion. Les nichées qui se développent dans l'épiderme altèrent les cellules en les refoulant pour se creuser un nid. Ces cellules épithéliales comprimées s'étalent en s'amincissant au-dessus des parasites et leur constituent une enveloppe kystique. Elles subissent une dégénérescence hyaline qui leur donne l'aspect de cellules cornées (fig. 19 Pl. 19 et fig. D texte). La cuticule s'amincit, se soulève et se perfore. C'est alors qu'on voit à la surface de la peau du *Lumbriculus* de très petites tumeurs blanchâtres qui s'ulcèrent en mettant les parasites en liberté. Ces ulcérations de la peau du *Lumbriculus*, n'intéressant que les cellules épidermiques, sont vite réparées par des divisions mitotiques toujours nombreuses dans l'épithélium tégumentaire des Vers parasités par le *Spirocystis* (fig. D texte).

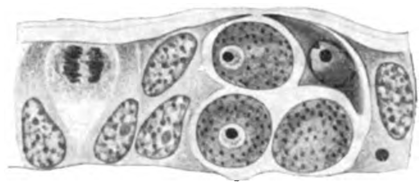


Fig. D.
Une nichée de 3 Gamètes dans l'épiderme de *Lumbriculus*. Ouverture de l'ulcération et mitose de régénération. × 850.

Cycle évolutif.

Malgré la série de formes que nous venons de décrire, il est fort difficile d'interpréter d'une façon satisfaisante le cycle de *Spirocystis*. Tout concourt à embrouiller la sériation de ses stades, aussi bien leur aspect, qui est spécial, que leur situation dans l'hôte qui est bizarre et déroutante.

Nous voyons des éléments à membrane mince, apparemment destinés à la multiplication endogène, émigrer à l'extérieur par deux voies différentes, tandis que les sporocystes, extrêmement résistants, sont internes et ne semblent pouvoir être mis en liberté que par la mort de l'hôte. Il n'est pas impossible que le cycle soit hétéroïque comme chez les *Porospora* avec lesquels le *Spirocystis* présente certains traits communs. Cependant rien ici n'engage à admettre cette hypothèse puisque nous avons sous les yeux, dans le même hôte, schizogonie et sporogonie et que, d'autre part, beaucoup de Sporozoaires d'Annélides formant des spores coelomiques évoluent complétement dans un seul hôte.

Voici l'interprétation que nous proposons:

Le sporozoïte issu de la spore ou sporocyste, donne le schizonte héliçoïde multinucléé qui représenterait par conséquent une première schizogonie du parasite. Nous n'avons pas observé la mise en liberté des premiers schizozoïtes, mais on peut penser que d'eux, directement ou après plusieurs schizogonies (stades en croissant de l'épiderme [fig. 13 et 18 Pl. 19]), dérivent les nichées d'éléments sexuellement différenciés: éléments falciformes ou microgamètes et corps ovoïdes à mitochondries ou macrogamètes (fig. 5, 6, 7 Pl. 19). La copulation de ces micro- et macrogamètes donnerait finalement les sporocystes.

Par l'essaimage des nichées de l'epithélium intestinal, les éléments sexuels se retrouvent libres dans l'intestin où ils peuvent sans doute donner également des sporocystes rejetés au dehors avec les excréments.

Quant aux nichées de l'épiderme, leur sort reste énigmatique. Peut-être s'agit-il simplement d'éléments dévoyés et destinés à périr.

Affinités.

Il faudrait connaître d'une façon plus précise l'évolution du *Spirocystis* pour bien discuter ses affinités. Nous croyons cependant que les caractères morphologiques des divers stades nous permettent déjà de rechercher sa parenté.

Les sporocystes de *Spirocystis*, toujours isolés et monozoïques, sont certainement très voisins de ceux que Schneider (1892) et Léger (1903, 1905, 1911) ont fait connaître dans divers Lamellibranches. Or nos recherches (1913a et b) ont montré que ces *Nematopsis* représentent le terme de l'évolution sporogonique des *Porospora*, Grégarines des Crustacés décapodes dans le rectum desquels elles s'enkystent à la fin de leur croissance pour former schizogoniquement des gymnospores à germes radiés. Ces germes, absorbés ensuite par les Lamellibranches, sont sans doute des gamétes qui, copulent et se transforment en une spore monozoïque nématopsidienne semblable à celle du *Spirocystis*.

On est donc conduit à interpréter le *Spirocystis* comme une Grégarine dont l'évolution complète serait comparable à celle des *Porospora*, mais se passerait dans un seul hôte, le *Lumbriculus variegatus*. La première schizogonie, celle qui correspond aux kystes intestinaux de *Porospora*, serait représentée par les grands schizontes héliçoïdes du *Spirocystis*. Les corps en croissant ou gamètes du rein des Lamellibranches correspondraient aux nichées d'éléments sexuellement différenciés. Dans les deux types la spore finale résulte de

l'union de ces éléments. Ce parallélisme paraît acceptable malgré la grande différence d'aspect de la schizogonie. Le *Spirocystis* paraît ainsi devoir se ranger dans les Schizogrégarines monosporées.

Les affinités du *Spirocystis* ne sont sans doute pas limitées aux seules Porosporidées. Cependant, quand on recherche les formes affines on ne trouve guère à retenir que des Sporozoaires tels que *Joyeuxella*, *Eleutheroschizon*, *Siedleckia*, *Schaudinnella* dont le cycle n'est pas connu et dont la position systématique reste très incertaine.

La comparaison avec ces divers Sporozoaires aidera peut-être plus à leur interprétation qu'elle ne nous éclairera sur le *Spirocystis*. Mais par cela même elle n'est pas inutile. Elle est justifiée au surplus par le fait que toutes ces formes sont des parasites d'Annélides et que des spores nématopsidiennes ont déjà été observées chez des Annélides marines: chez des Sabelliens par Mesnil (Bull. Inst. Pasteur 1904); chez des *Polyophtalmus* par nous-mêmes.

Le stade schizonte vermiculaire et le mode de schizogonie du *Spirocystis* se retrouvent analogues chez *Joyeuxella toxoides* (Brasil 1904) et chez *Eleutheroschizon duboscqi* (Brasil 1906). De ces deux formes qui sont sans doute parentes, c'est surtout avec *Joyeuxella* que *Spirocystis* montre le plus d'affinités morphologiques et cytologiques. Comme *Joyeuxella*, *Spirocystis* a des stades vermiformes trapus et incurvés, une schizogonie interne dans laquelle la paroi du corps persistante ne participe pas à la formation des schizozoïtes. Enfin, chez *Spirocystis* comme chez *Joyeuxella*, le karyosome est le principal élément du noyau et se comporte comme un nucléolo-centrosome.

En ne considérant que la morphologie générale du schizonte on pourrait aussi rapprocher le *Spirocystis* de *Siedleckia nematoïdes* (Caullery et Mesnil 1899) dont il représenterait une forme enroulée, probablement immobile et adaptée à la vie coelomique. Remarquons en effet que les schizontes vermiculaires de ces deux genres se terminent postérieurement par une sorte de prolongement conique, plus ou moins étiré, différenciation épicytaire qui définit l'orientation de l'animal. La pointe sidérophile qui achève de donner à *Eleutheroschizon* l'apparence d'un casque, représente sans doute ce mucron postérieur.

Il est manifeste, cependant, que *Siedleckia* a moins d'affinités avec *Spirocystis* que *Joyeuxella*.

Quant à la singulière disposition des éléments gamétogènes nous la retrouvons presque intégralement chez *Schaudinella henleae* Nusbaum, parasite, comme *Spirocystis*, d'un Oligochète limicole.

J. Nusbaum (1903) n'a pas observé les sporocystes de *Schaudinella*. Par conséquent le cycle de son parasite est incomplet. Minchin (1912) a déjà mis en doute la rectitude de l'interprétation de Nusbaum, qui fait précéder d'un processus sexué la multiplication endogène. A notre avis Nusbaum a confondu en un seul cycle celui de plusieurs parasites. Le stade de Monocystidée intestinale qu'il décrit appartient à une Grégarine dont l'évolution n'à rien à faire avec celle de la vraie *Schaudinella*. Il reste donc à rechercher dans *Henlea leptodera* les stades qui peuvent correspondre à ceux du *Spirocystis*, en particulier les sporocystes.

Somme toute, et sans être très étroites, les affinités les plus proches du *Spirocystis* semblent être avec les *Porospora*. Jusqu'à plus ample informé nous placerons donc le parasite de *Lumbriculus* dans les Schizogrégarines monosporées, mais en créant pour lui une famille de Spirocystidées bien distincte des Porosporidées et des Ophryocystidées.

Index bibliographique.

1904 Brasil, L.: Contribution à la connaissance de l'appareil digestif des Annélides polychètes. L'épithélium intestinal de la Pectinaire. Arch. Zool. expér. et gén. (4) T. 2.

1906 —: Eleutheroschizon duboscqi, Sporozoaire nouveau parasite de Scoloplos armiger O. F. Muller. Arch. Zool. expér. et gén. (4) T. 4 N. et R.

1899 Caullery, M. et Mesnil, F.: Sur quelques parasites internes des Annélides. Miscellanées biologiques dédiées à Giard Paris.

1899 Darboux, J.: Recherches sur les Aphroditiens. Bull. scient. France et Belgique T. 33.

1906 Koltzoff: Studien über die Gestalt der Zelle. I. Untersuchungen über die Spermien der Decapoden als Einleitung in das Problem der Zellengestalt. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 67.

1903 Léger, L.: Sporozoaires parasites des Moules et autres Lamellibranches comestibles. C. R. Acad. des Sci. Paris T. 137.

1905 —: Un nouveau Nematopsis des Moules de la Méditerranée. Bullet. A. F. A. S. No. 9. Congrès de Cherbourg.

1911 —: Caryospora simplex, Coccidie monosporée et la classification des Coccidies. Arch. f. Protistenk. Bd. 22.

1910 Léger et Duboscq: Selenococcidium intermedium Lég. et Dub. et la systématique des Sporozoaires. Arch. Zool. expér. et gén. (5) T. 5.

1913a — —: Le cycle évolutif de Porospora portunidarum Fr. C. R. Acad. des Sci. Paris T. 156.

1913b — —: Sur les premiers stades du développement des Grégarines du genre Porospora (= Nematopsis). C. R. Soc. de Biol. Paris T. 75, 19 Juillet 1913.

1914 Léger et Duboscq: Sur nouvelle Schizogrégarine à stades épidermiques et à spores monozoiques. C. R. Soc. de Biol. Paris T. 76 No. 7, 27 Février 1914.

1908 Meves et Duesberg: Die Spermatocytenteilung bei der Hornisse (Vespa crabro L.). Arch. f. mikr. Anat. Bd. 71.

1912 Minchin, E. A.: An introduction to the study of the Protozoa with special reference to the parasitic forms. London.

1903 Nusbaum, J.: Fortpflanzung einer Gregarine Schaudinella henleae. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 75.

1907 Perez, Ch.: Notes histologiques sur le Branchellion de la Torpille. Bull. Stat. biol. d'Arcachon 10.

1892 Schneider, A.: Signalement d'un nouveau Sporozoaire. Tablettes Zool. Poitiers 2.

Explication de la Planche 19.

Spirocystis nidula Léger et Duboscq.

Parasite de *Lumbriculus variegatus* Müller.

Toutes les figures de cette planche sauf la figure 16, représentent des éléments de frottis ou de coupes fixées au sublimé et colorées à l'Hématoxyline ferrique.

Fig. 1. Schizonte vermiculaire à un noyau (en division). × 1150.
Fig. 2. Schizonte vermiculaire à 2 noyaux. × 1150.
Fig. 3. Schizonte vermiculaire à noyaux déjà nombreux. × 1150.
Fig. 4. Schizonte vermiculaire à la fin de la croissance. × 1150.
Fig. 5. Trois nichées de gamètes à divers stades. × 1150.
Fig. 6. Microgamète et macrogamète dans une cellule chloragogène. × 1150.
Fig. 7. Nichée de gamètes. × 1150.
Figs. 8—12. Macrogamètes avec filaments fusoriformes. × 1800.
Fig. 13. Corps en croissant de l'épiderme. × 1800.
Fig. 14. Schizogonie dans une cellule chloragogène. × 1150.
Fig. 15. Copula? × 1000.
Fig. 16. Spore vue sur le vivant. × 750.
Fig. 17. Spore colorée. × 750.
Fig. 18 Corps en croissant dans l'épiderme. × 1150.
Fig. 19. Nichée de gamètes dans l'épiderme. × 1150.

Über Bau, Teilung und Encystierung von *Bodo edax* Klebs.

Von

Alfred Kühn,

a. o. Professor in Freiburg i. Br.

(Hierzu Tafel 20.)

Inhalt.

Seite

Einleitung 213

1. Material und Methoden 216
2. Über die systematische Bezeichnung der vorliegenden Flagellatenform . 217
3. Der Bau des Zellkörpers 219
4. Der Bau des Kernes 223
5. Der Geißelapparat 225
6. Die Teilung 230
   - A. Übersicht über die Teilungsveränderungen am lebenden Tier . 230
   - B. Die Kernteilung 232
   - C. Die Verdoppelung des Geißelapparates 237
7. Cystenbildung 241
   - A. Die Ausbildung der Cysten 241
   - B. Ausschlüpfen aus den Cystenhüllen 243
8. Besprechung der Ergebnisse über Kern und Geißelapparat 244
   - A. Kernkonstitution und Kernteilung 244
   - B. Der Geißelapparat 249

Literaturverzeichnis 252

Tafelerklärung 254

Einleitung.

Die Flagellatenformen, welche der von HARTMANN und CHAGAS (1910) aufgestellten Gattung *Prowazekia* angehören, verdienen aus verschiedenen Gründen besondere Beachtung.

Soweit bis heute bekannt, besitzen sie allein unter den frei lebenden Formen einen Blepharoplasten, der unter den parasitischen Flagellaten den Trypanoplasmiden (Cryptobiiden) und Trypanosomiden (Herpetomonaden) allgemein zukommt. So bieten die Prowazekien eine Möglichkeit, diese parasitischen Formen an nahe verwandte freilebende anzuknüpfen.

Die Trypanosomen und ihre Verwandten hat HARTMANN (1907) auf Grund der größeren Kompliziertheit ihres Geißelapparates von den Protomonadinen getrennt und zu einer besonderen Flagellatenordnung erhoben; diese hat er als Binucleata bezeichnet, da er den Blepharoplasten als zweiten Kern (lokomotorischen Kern, Kinetonucleus) anspricht. Er fügt dieser Ordnung auch die Hämosporidien ein mit den Familien: Piroplasmidae, Halteriididae, Leucocytozoidae und Plasmodidae, da er für diese Organismen die nahe Verwandtschaft mit Flagellaten und das Vorhandensein eines Blepharoplasten für erwiesen hält (vgl. auch HARTMANN u. JOLLOS 1910, HARTMANN 1913).

Wenn es auch auf jeden Fall zweckmäßig erscheint, die engere Verwandtschaft der unzweifelhaften Flagellaten mit Blepharoplasten, „Prowazekien", Trypanoplasmen und Trypanosomen systematisch zum Ausdruck zu bringen, so erscheint die Berechtigung, ihnen die Hämosporidien ohne weiteres anzureihen, nach dem heutigen Stande der Kenntnisse noch zweifelhaft und wird von vielen Seiten abgelehnt. Zweifelhaft ist auch immer noch die theoretische Vorstellung, die der Bezeichnung „Binucleata" zugrunde liegt, die Zweikernigkeitstheorie. Die feineren cytologischen Verhältnisse sind gerade bei den mit einem Blepharoplasten versehenen Flagellaten noch besonders heiß umstritten.

Die Lehre vom „Kerndimorphismus" der Trypanosomenzelle entsprang aus SCHAUDINN's Schilderung der Befruchtungsvorgänge und der daran sich anschließenden Neubildung des Saumgeißelapparates bei den „Trypanosomenstadien von *Haemoproteus noctuae*", die aber nur in kurzer, vorläufiger Mitteilung (1904) vorliegt und nicht auf Untersuchungen mit modern vollkommener Technik

beruht. SCHAUDINN's Schilderung fand seitdem nie eine Bestätigung und wird immer mehr in Zweifel gezogen. Von einem echten mit Blepharoplast versehenen Flagellaten haben wir überhaupt keine sicheren Angaben über den Verlauf des Geschlechtsaktes und somit über die Rolle des Blepharoplasten in den Stadien, in denen sich seine Kernnatur am ehesten enthüllen müßte. Die Beobachtungen von v. PROWAZEK (1905) über *Trypanosoma lewisi* sind lückenhaft, werden von dem Forscher nur mit vorsichtigem Vorbehalt gedeutet und beruhen auf primitiven cytologischen Methoden (Trockenfixierung); am lebenden Tier konnten sie nicht bestätigt werden.

Neuerdings haben dann HARTMANN und einige seiner Schüler einen anderen Beweis für die Kernnatur des Blepharoplasten zu erbringen gesucht. Nach ihren Befunden sprechen sie ihm einen typischen Kernbau und eine mitotische, bzw. promitotische Teilungsweise zu (ROSENBUSCH 1909, JOLLOS 1910, HARTMANN u. CHAGAS 1910, WHITMORE 1911). Zahlreiche andere Forscher, die seitdem „Binucleaten“ untersuchten und sich auch zum Teil auf den theoretischen Boden HARTMANN's stellten und den Blepharoplasten als „Kinetonucleus“ annahmen, konnten die mitoseartige Teilung des Blepharoplasten nicht bestätigen, sondern geben wie zahlreiche frühere Autoren eine einfache Durchschnürung des Blepharoplasten (Kinetonucleus) an (SALVIN-MOORE, BREINL u. HINDLE 1907, 1908; ALEXEIEFF 1911a, 1912a, 1912c; MARTIN 1910, 1913a, 1913b; KÜHN u. v. SCHUCKMANN 1911, 1912; SINTON 1912).

Nach ROSENBUSCH (1909) sollte sich bei der normalen Zellteilung von Trypanosomen der ganze neue Geißelapparat aus dem Blepharoplasten bilden; zuerst werde von dem neuen Blepharoplasten mitotisch ein Basalkorn abgeschnürt; dann teile sich dieses Basalkorn weiter in das bleibende Basalkorn und das „Endknöpfchen“ der Geißel; zwischen beiden ist die Geißel als dauernde „Centrodesmose“ ausgespannt. Damit erschien der ganze Geißelapparat der Trypanosomen auch durch die gewöhnliche vegetative Teilung als genetisch zum Kernapparat gehörige Einheit erwiesen. Für *Prowazekia cruzi* wurden einige Stadien der Geißelbildung von HARTMANN u. CHAGAS (1910) beschrieben und in entsprechendem Sinne gedeutet. Allerdings wird durch die sehr wenigen für diese bedeutsame Entwicklungsfolge gegebenen Bilder der mitotische Charakter der zweimaligen Teilung, die zur Geißelbildung führen soll, nicht überzeugend dargetan. Andere Autoren konnten diesen Vorgang nicht bestätigen (ALEXEIEFF 1911a, 1913; MARTIN 1910, 1913b; KÜHN u. v. SCHUCKMANN 1911, 1912; SINTON 1912). Sie

stimmen vielmehr darin überein, daß bei *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma lewisi*, *Trypanoplasma (Cryptobia) cyprini*, *Trypanoplasma intestinalis (Cryptobia dahli)*, *Trypanoplasma congeri*, *Bodo caudatus* (einer „*Prowazekia*") und *Prowazekia urinaria (Bodo urinarius)* der Blepharoplast sich einfach durchschnürt und die Verdoppelung der Geißel beginnt, bevor sich der Blepharoplast des Elterntieres zur Teilung anschickt. So kann jedenfalls die Geißelbildung nicht von einem Tochterblepharoplasten ausgehen.

Auch die feineren Vorgänge bei der Kernteilung liegen bei dieser wichtigen Flagellatengruppe nicht klar. HARTMANN und seine Schüler (ROSENBUSCH 1909, CHAGAS 1910, HARTMANN u. CHAGAS 1910, HARTMANN 1911, JOLLOS 1911) fügen die Kernteilung der Trypanosomen, Trypanoplasmen und „Prowazekien" mit aller Bestimmtheit dem Schema der lediglich am Binnenkörper ablaufenden „Promitose" ein. Andere Forscher, die ebenfalls mit moderner Fixierungs- und Färbetechnik arbeiteten, geben mit derselben Bestimmtheit ganz andere Teilungsbilder von Trypanosomen, Trypanoplasmen und Prowazekien, die sich nicht ohne weiteres einem einfachen Schema einordnen lassen, aber jedenfalls nicht „promitotisch" in obigem Sinne sind (SALVIN-MOORE, BREINL u. HINDLE 1907, 1908; MARTIN 1910, 1913a, b; ALEXEIEFF 1911a, 1912a, b, c, 1913; KÜHN u. v. SCHUCKMANN 1911, 1912).

Diese wichtigen Fragen weisen alle auf eine genaue Erforschung der „Prowazekien" hin; sie sind von beträchtlicherer Größe als die Trypanosomen und als freilebende Formen leichter zu züchten und in ihrem ganzen Lebensgange zu überwachen.

Nachdem v. SCHUCKMANN und ich uns früher (1911, 1912) mit cytologischen Studien an Trypanosomen beschäftigt hatten und, wie aus der Literaturübersicht oben ersichtlich, über Bau und Teilung des Blepharoplasten, über Neubildung der Geißeln und die Kernteilung zu ganz anderen Ergebnissen gekommen waren als HARTMANN und seine Schüler, wandten wir uns *Prowazekia* zu, um hier womöglich weitere Aufschlüsse zu erhalten. In einem sind unsere Bemühungen erfolglos geblieben: wir konnten auch hier keinerlei Geschlechtsvorgänge finden, die ja für die Entscheidung des Zweikernigkeitsproblems besonders wichtig wären; sonst aber erwies sich „*Prowazekia*" als äußerst günstiges Objekt zu cytologischen Studien, das wir nur dringend zu Nachuntersuchungen mit möglichst mannigfaltiger Methodik empfehlen können.

Wir haben unsere Hauptergebnisse schon 1913 mitgeteilt. Leider konnte mein Freund v. SCHUCKMANN infolge seines Wegzuges nach

Berlin an das Kaiserliche Gesundheitsamt sich an der Fortführung unserer Flagellatenstudien nicht mehr beteiligen, so daß ich hier allein ausführlich über den Lebensgang der uns vorliegenden Art berichte. Es sind zum größten Teil gemeinsam erworbene Ergebnisse, und ich möchte hier nochmals ausdrücklich dankbar den großen Anteil hervorheben, der an dieser Arbeit v. Schuckmann zukommt.

---

1. Material und Methoden.

Die uns hier beschäftigenden Flagellaten traten in großer Menge in Kulturen freilebender Nematoden auf, die in dem hiesigen zoologischen Institut gehalten wurden. Das Nährmedium war faulendes Pferdeblut. Sie fanden sich später sehr verbreitet in verschiedenen faulenden Flüssigkeiten, besonders solchen, die mit Spuren feuchter Erde geimpft waren.

Offenbar können mehrere einander recht ähnliche Arten erhalten werden, häufig aber bevölkert eine allein ganz rein eine Wurmkultur und ernährt sich wie die Würmer von den Fäulnisbakterien.

Eine besonders große Flagellatenform wurde ausgesucht und auf Pferdeblutkulturen, später auch auf Platten mit Amöbenagar und *Bacterium coli* weiter gezüchtet. Auf diese Weise erhielten wir ungeheure Flagellatenmengen. Reinkulturen, ausgehend von einer einzigen Cyste, erwiesen sich nicht als nötig.

Über die Technik der Fixierung und Färbung ist wenig zu bemerken. In Abklatschpräparaten von der Kahmhaut des flüssigen Kulturmediums erhält man eine reiche Flagellatenausbeute. Man legt ein sauberes Deckglas auf die Flüssigkeitsoberfläche, läßt einige Sekunden oder Minuten liegen, hebt vorsichtig ab und läßt das Deckglas auf das Fixierungsmittel (Sublimat-Alkohol nach Schaudinn, warm angewandt, oder Sublimat-Alkohol-Essigsäure) gleiten. Nach einer Fixierungsdauer von 1—12 Stunden wurde ausgewaschen mit Jod-Jodkalium und Natriumthiosulfat.

Die Färbungen wurden ganz nach dem Verfahren ausgeführt, das v. Schuckmann und ich schon in unserer Trypanosomenarbeit (1912) geschildert haben, und das neuerdings noch an anderer Stelle eine sehr ausführliche Darstellung fand (vgl. v. Wasielewski u. Kühn 1914).

Romanowsky-Färbung: Färben in Färbeschalen mit verdünnter Giemsa-Lösung, eventuell Kontrolle der Progressivfärbung

auf der „Brücke“ unter dem Mikroskop; Differenzieren auf der Brücke (bei Immersion) in Aceton bzw. Aceton-Xylol; Überführen in Xylol und Einlegen in Cedernholzöl.

Eisenhämatoxylin-Färbung nach den Angaben von Heidenhain: Beizen in 0,25 proz. Eisenammoniumalaunlösung, Färben mit Hämatoxylin, Differenzierung unter dem Mikroskop (Immersion) auf der Brücke, eventuell Vorfärben mit Bordeauxrot oder Nachfärben mit Lichtgrün.

Wir nehmen die verhältnismäßige Umständlichkeit, besonders des Differenzierens auf der Brücke, um der Zuverlässigkeit willen in Kauf, die uns bei der Untersuchung der vielumstrittenen cytologischen Verhältnisse bei Flagellaten unbedingt wünschenswert erscheint.

Über einige andere Färbeversuche, die wir zur Prüfung der färberischen Eigenschaften der Kernbestandteile und des Blepharoplasten anstellten, wird im Zusammenhang berichtet werden (vgl. S. 224 f. und 229).

Manchmal erwies sich störend, daß unmittelbar am Deckglas eine dichte Bakterienschicht haftete und die Flagellaten erst dieser von unten anlagen. Dann konnten im fertigen Präparat die Bakterien für eine scharfe Einstellung der Einzelheiten im Flagellatenkörper hinderlich sein. In diesem Falle klebten wir das Deckglas mit der Rückseite mittels Cedernholzöl am Objektträger fest und bedeckten es mit einem Tropfen Cedernholzöl und einem zweiten Deckglas. So waren die Flagellaten nach oben gekehrt und der Beobachtung unmittelbar zugänglich.

2. Über die systematische Bezeichnung der vorliegenden Flagellatenform.

Neuerdings hat sich ein nomenclatorischer Streit über die Berechtigung der Gattung „*Prowazekia*“ erhoben. Alexeieff (1910, 1911 b, 1912 b) macht geltend, daß *Prowazekia* (Hartmann u. Chagas 1910) zusammenfalle mit der Gattung *Bodo* Ehrbg. und identifiziert mehrere der bisher beschriebenen „Prowazekien“ mit früher von Stein, Klebs u. a. beschriebenen Arten. Er hält z. B. *Prowazekia cruzi* Hartmann u. Chagas für *Bodo edax* Klebs und *Prowazekia parva* Nägler für *Bodo saltans* Ehrbg. Ganz allgemein betont er: „que parmi les Flagellés libres communs, notamment parmi ceux que l'on trouve dans les infusions de toutes sortes, il n'y a plus de formes nouvelles à découvrir; en cherchant bien dans les mémoires et traités

classiques, on arrivera à identifier toujours tous ces Flagellés avec des espèces décrites“ (1912 b, p. 418).

Diese Vermutung Alexeieff's liegt allerdings nahe bei der großen Zahl gelegentlich beschriebener Süßwasserformen und dem ungemeinen Eifer älterer Autoren in der Durchforschung der Fauna von Infusionen. Aber häufig sind, wie auch schon Klebs beklagt die Bestimmungen der Artmerkmale bei den früheren Forschern so wenig genau, daß man sich leicht versucht fühlt, eher eine neue Art zu beschreiben, als unsicher zu identifizieren. Wenn wir heute mit Reinkulturen von freilebenden Flagellaten arbeiten und nicht nur einige Individuen aus der Infusion beobachten, kann es oft begegnen, daß die feineren Merkmale zweier für uns wohl unterscheidbaren Arten in die ungenaue Diagnose einer „alten Art“ hineinpassen und auch die älteren Zeichnungen keine sicheren Anhaltspunkte geben. Oder aber die wechselnde Größe und Gestalt der Formen in der Kultur einer Form läßt vermuten, daß ein früherer Autor zwei Zustände derselben Art verschieden benannt hat.

Nur eine ganz genaue Beschreibung der Gestalt und Bewegungsart des lebenden Tieres kann im Verein mit den Angaben über die feineren Einzelheiten des Baues nach Präparaten ein sicheres Wiedererkennen einer Form ermöglichen. So bin ich nicht so sicher wie Alexeieff, daß die beiden obengenannten *Prowazekia*-Arten mit den betreffenden *Bodo*-Arten zusammenfallen. Die Angaben über die Form des lebenden Tieres sind bei Hartmann u. Chagas und Nägler ganz kurz; nicht einmal das charakteristische Rostrum wird erwähnt; die kontraktile Vacuole wurde übersehen.

Aber darin, daß die Gattung *Prowazekia* mit *Bodo* zusammenfällt, scheint Alexeieff im Rechte zu sein. Vergleicht man meine Bilder (Taf. 20 Fig. 1, 2, 21, 57) von lebenden „Prowazekien“, d. h. von Flagellaten mit Blepharoplast und den ausgesprochenen feineren morphologischen Eigenschaften der von Hartmann u. Chagas untersuchten Form, mit den Bodonen, die vor allem Stein (1878, tab. II, Abt. III, V, VI) und Klebs (1893) abgebildet und beschrieben haben, so erhellt die außerordentliche Übereinstimmung. Die am besten beschriebene „alte“ *Bodo*-Art ist *Bodo caudatus* (Dujardin 1841) Stein 1878 und ihr kommt nun sicher ein Blepharoplast zu. Klebs hat ihn entdeckt, abgebildet (1893, tab. 14 fig. 3a—c) und wie folgt beschrieben: „Ich bemerkte an lebenden Individuen in der Nähe der Vacuole eine lichtbrechende Kugel (Fig. 3b, g)“ ... „Möglicherweise handelt es sich um Glykogen“ (l. c. p. 315). Ein Blick auf die Ab-

bildung (tab. 14 fig. 3) läßt keinen Zweifel, daß der fragliche Körper der Blepharoplast ist.

Für fast alle von Stein und Klebs genauer dargestellten *Bodo*-Arten ist ferner charakteristisch: das schnabelförmige Rostrum, das Vorhandensein einer Hauptgeißel und (meist längeren) Schleppgeißel, eine kontraktile Vacuole ganz nahe am Vorderende, ein rundlicher Kern etwa in der Mitte des Körpers. Ob es „*Bodo*-Arten" von dieser Charakteristik ohne Blepharoplast gibt, ist nicht erwiesen. Puschkarew's (1912) Bezeichnung verschiedener Flagellaten als *Bodo*-Arten, z. B. auch als *Bodo repens* Klebs, ist zweifelhaft; denn einmal fehlt diesen Formen anscheinend das Rostrum, und dann liegt bei ihnen die kontraktile Blase am Körperhinterende, der Kern nahe dem Vorderende. Das letztere gilt auch von der „*Bodo*"-Art, die Hartmann u. Chagas (1910, p. 34) abbilden. Von den *Bodo*-Arten Stein's scheint nur *Bodo globosus* Stein (1878, tab. II, Abt. IV, fig. 1—6) aus der allgemeinen Charakteristik herauszufallen; sein Körper hat andere Form, und die Geißeln sind nicht immer so streng nach hinten und vorn ausgerichtet, die kontraktile Vacuole liegt nicht am Vorderende.

Eine Form, die bislang noch in den Lehrbüchern (Doflein 1911, Hartmann 1913 u. a.) als Typus für die Gattung *Bodo* aufgeführt wird, „*Bodo*" *(Heteromita) lacertae* Grassi, scheidet, wie Alexeieff (1912b) hervorhob, sicher aus der Gattung aus und rückt als *Heteromita* oder „*Prowazekella*" Alexeieff recht weit von den Bodonen ab. Die Form kann bei ihrer ganz anders gearteten Geißelinsertion nicht einmal in derselben Familie wie *Bodo* bleiben.

So scheint auch mir in der Tat die Einziehung der Gattung *Prowazekia* aus nomenclatorischen Gründen notwendig.

Die von uns untersuchte *Bodo*-Form halte ich für *Bodo edax* Klebs, wenigstens stimmen die Merkmale, die wir regelmäßig an unseren Flagellaten wahrnahmen, am meisten mit der Beschreibung überein, die Klebs (1893, p. 312, tab. XIII fig. 8a—c) von dieser Art gegeben hat.

3. Der Bau des Zellkörpers.

Die Körperform unseres Flagellaten ist im Leben längsoval oder birnförmig, nach dem Hinterende zu stärker verjüngt (Fig. 1, 2, 21, 57). Die Seite, an der die Schleppgeißel herunterzieht („Bauchseite") ist viel weniger ausgebogen als die „Rückenseite" des Tieres. Häufig sieht man bei seitlicher Ansicht die Bauchseite deutlich ein-

gezogen (Fig. 2). Während des Schwimmens wird die Körpergestalt nicht stark verändert; nur wenn ein Flagellat sich zwischen Hindernissen hindurchwindet, zeigt sein Körper erhebliche Biegsamkeit. Verkürzungen in der Längsachse oder Zusammenziehung in der Quere und damit Streckung der Körperlängsachse oder andere aktive Formveränderungen sahen wir nicht. „Amöboide" Individuen kamen in unsern Flüssigkeitskulturen nicht zur Beobachtung.

In den Dauerpräparaten war die Körperform der lebenden Zellen meist vollständig erhalten (Fig. 6, 8, 9, 17, 19, 45 u. a.). Manchmal wird der Körper stark abgeplattet, wenn er beim Fixieren am Deckglas festgeklebt wird; dabei kann die Zuspitzung des Hinterendes verloren gehen und die Breitenausdehnung größer werden als dies beim lebenden Tier der Fall ist (Fig. 5, 10, 18). Am Vorderende ist stets im Leben und zumeist auch deutlich im fixierten Präparat ein „Rostrum" oder „Schnabel" zu sehen (Fig. 1, 2, 6, 8, 14 u. a.), ein lappenförmiger Fortsatz, der wie eine große Oberlippe eine Grube überwölbt, aus der die Geißeln herauskommen. Wie die Körperoberfläche überhaupt, wird auch das Rostrum von einer dünnen aber festen Pellicula überzogen, die es formbeständig macht. Aktive Bewegungen konnten wir während der Fortbewegung am Rostrum nicht sehen.

Die beiden Geißeln des Tieres scheinen nicht in der Tiefe der unter dem „Schnabel" gelegenen „Geißelgrube", sondern an der Unterseite oder am Rande des Rostrums aus dem Körper herauszutreten.

Auch bei der Nahrungsaufnahme haben wir keine amöboide Veränderung der Körperform bemerkt. Wir sahen mehrmals Bakterien oder Hefen von einem *Bodo* erfaßt. Stets schienen die Zellen an der Unterseite des Rostrums entlang ins Innere des Körpers zu gleiten. Es würde also die Geißelgrube doch einem Cytostom etwa entsprechen. Die Nahrungskörper schieben sich dann zwischen dem Blepharoplasten und der kontraktilen Vacuole hindurch, und in dieser Lage trifft man sie ab und zu auch im fixierten Präparat noch an (Fig. 3).

Die Körpergröße kann sehr wechseln. In einer einige Tage alten Kultur pflegen alle Individuen von annähernd gleicher Größe zu sein. Sie messen 11—15 μ in der Länge und 5—8 μ in der Breite.

In älteren Kulturen trifft man häufig Tiere von sehr verschiedener Größe an. Neben solchen, welche die genannte Durchschnittsgröße haben, andere, die weit dahinter zurückbleiben und nur etwa 5—8 μ lang und 3—4 μ breit sind. Von vorn herein bestünde die Möglichkeit, daß es sich hier um eine Mischkultur von mehreren Arten oder

Rassen handeln könnte, da wir Reinkulturen, ausgehend von einem einzigen Individuum nicht angelegt haben. Dagegen spricht aber einmal die große Übereinstimmung im ganzen Körperbau der großen und der kleinen Formen und dann auch der Umstand, daß zwischen beiden Extremen alle Übergänge vorhanden sind (vgl. Fig. 2, 6, 8, 13, 16, 45—48) und daß die Größenunterschiede zu Beginn der Kulturentwicklung, in den ersten Tagen, nachdem mit Cysten geimpft wurde, kaum nennenswert sind und dann zunehmen. Auch der Kern und der Blepharoplast zeigen bei den winzigen Individuen eine starke Verminderung ihres Umfangs (Fig. 46—48), aber diese erfolgt keineswegs im gleichen Verhältnis wie die Verkleinerung des Plasmaleibes. Während in den Tieren von Durchschnittsgröße in den jungen Kulturen Kern, Blepharoplast und kontraktile Vacuole nur als verhältnismäßig kleine Einlagerung im Plasmakörper erscheinen (vgl. Fig. 2, 8), füllen sie in den Zwergindividuen fast den ganzen Körper aus. Das Plasma überzieht sie nur als dünne Schicht. Dennoch behält der Plasmakörper stets seine charakteristische Form mit Schwanzspitze und Rostrum bei (Fig. 46—48).

Die Zwergformen können wohl nur dadurch zustande kommen, daß in einem gewissen Entwicklungszustand der Kultur in vielen Individuenreihen das Wachstum zwischen je 2 Teilungen unterbleibt oder nur ganz geringen Wert hat. Nach Beobachtungen an einigen Kulturen wird mit dem Alter der Kulturen nicht nur der Gegensatz in der Körpergröße der Individuen größer, sondern die Maximalgröße, die man findet, sinkt auch herab. Diese Erscheinung hängt jedenfalls nicht damit zusammen, daß die Tiere durch Erschöpfung der Nahrung zum Hungern verurteilt wären. Es waren stets noch große Massen von Bakterien in den Kulturen vorhanden. Möglicherweise aber haben sich im Laufe der Entwicklung der Kultur Stoffwechselprodukte der Bakterien oder der Flagellaten selbst angehäuft, die der Nahrungsaufnahme oder dem Wachstum der Bodonen ungünstig sind. Vielleicht tritt dann auch eine Teilungsabnormität, die wir noch besprechen werden, häufiger auf, die Vielteilung (gehäufte, gedrängte Teilung), die besonders kleinen Individuen den Ursprung geben kann.

Der Bau des Protoplasmas erscheint im lebenden Tier (Fig. 1, 2, 21—24, 55—57) und in den gefärbten Präparaten sehr fein gekörnt oder ganz fein alveolär.

Fast immer sind zahlreiche größere und kleinere Plasmaeinschlüsse zu finden. In Nahrungsvacuolen liegen Bakterien und Hefezellen. Manchmal werden mehrere Nahrungskörperchen von einer größeren Vacuole umgeben; das ist besonders bei sehr kleinen

Bakterien der Fall. Meist aber wird jede aufgenommene Beutezelle von einer besonderen kleinen Vacuole umhüllt. Handelt es sich um große, lange Nahrungskörper, so wird um sie nicht eine runde, bläschenförmige Vacuole gebildet, sondern eine dünne, entsprechend geformte Flüssigkeitsschicht umgibt sie. Auch in den Präparaten umzieht große Bakterien oder Hefestäbchen der Vacuolenraum als feiner heller Saum (Fig. 3, 10 u. a).

Außer den Nahrungsvacuolen birgt das Protoplasma noch andere Vacuolen von kugliger Form, die am lebenden Tier in gewöhnlichem Licht und im Dunkelfeld (Fig. 1) sehr verschiedenes Lichtbrechungsvermögen zeigen. Nach Sublimat-Alkohol-Fixierung erscheinen sie meist leer. Nur selten sind sie von einer schwach färbbaren Masse erfüllt. Sie enthalten wohl Sekrete, Exkrete und Speicherungsprodukte. Wir haben ihre Natur im einzelnen nicht untersucht und nur festgestellt, daß viele von ihnen Fetttröpfchen enthalten. Diese fallen schon am lebenden Tiere durch ihr besonders starkes Lichtbrechungsvermögen auf. Fixiert man mit 2 %iger Osmiumsäure oder Osmiumsäuredampf, so werden diese „Fettvacuolen" als schwarze Kügelchen erhalten (Fig. 4). Nach Fixierung mit Formol lassen sie sich mit Sudan III charakteristisch orange-rot färben (Fig. 5, 6). Der Fettgehalt der Tiere ist, je nach dem Ernährungszustand der Tiere, sehr verschieden. Die Zwergindividuen älterer Kulturen sind immer völlig fettfrei, wie sie überhaupt arm an Reservestoffen zu sein scheinen und meist keine Vacuolen besitzen (Fig. 46—48).

Am Vorderende des Tieres liegt neben der Geißelgrube immer eine kontraktile Vacuole. Stein und Klebs haben sie bei ihren *Bodo*-Arten stets an dieser Stelle beschrieben. Hartmann u. Chagas konnten bei *„Prowazekia" cruzi* keine kontraktile Vacuole feststellen; wir sahen sie, wie auch neuerdings Alexeieff (1911 a) und Sinton (1912), stets an den lebenden Tieren (Fig. 1, 2), wenn deren Bewegung durch längeren Aufenthalt unter dem Deckglase etwas langsamer geworden war, oder sie durch Bakterienmassen oder Traganthschleim an rascheren Bewegungen gehindert wurden.

Bei der Entleerung verschwindet die kontraktile Vacuole völlig, um dann als winziges Bläschen von neuem zu erscheinen; besondere Füllungsgänge konnten wir nicht sehen. Die Entleerung scheint nach der Geißelgrube hin zu geschehen, wenigstens sahen wir manchmal die Vacuole vor ihrem Verschwinden Tränenform annehmen mit nach dem Vorderende zugewandter Spitze.

Sinton konnte in den fixierten Tieren nichts von der kontraktilen Vacuole entdecken. In unseren Präparaten fand sich sehr häufig

am Vorderende neben dem Blepharoplasten eine scharf umschriebene runde Lücke, die augenscheinlich die kontraktile Vacuole darstellt (Fig. 8, 12, 25, 27, 30, 46 u. a.). Je nach dem Füllungszustand der Vacuole im Augenblick der Fixierung ist die Größe der Lücke im fixierten Präparat verschieden.

Die Pulsationszeit fanden wir nicht bei allen Individuen und nicht bei Proben aus verschiedenen Kulturen ganz gleich. Bei 16° C betrug sie einmal 35—45 Sekunden, in anderen Fällen 48—54 Sekunden.

4. Der Bau des Kernes.

Der Kernbau von *Bodo-(Prowazekia-)*Arten wurde in letzter Zeit mehrfach beschrieben; nach Hartmann u. Chagas (1910) ist der Kern („Hauptkern“) „bläschenförmig mit großem Caryosom. Die Kernmembran ist manchmal nicht sehr deutlich, aber vorhanden. In der Kernsaftzone findet sich wenig Chromatin. Das Caryosom ist sehr kompakt, weswegen auch das in ihm eingeschlossene Centriol gewöhnlich nicht zu sehen ist“ (Hartmann u. Chagas 1910, p. 30). Die Autoren haben lediglich mit Eisenhämatoxylin gefärbt. Alexeieff (1911 a, b) findet, ebenfalls mit Hämatoxylinfärbung, in dem Kernraum um das Caryosom „peripheres Chromatin“, in der Form feiner Körnchen, die weniger stark färbbar (sidérophiles) sind als das Caryosom; ebenso beschrieb C. H. Martin (1913 a) feine Chromatinkörnchen zwischen Caryosom und Kernmembran. Sinton hat mit etwas mannigfaltigerer Methodik den Kern von *Bodo* (*Prowazekia*) *urinarius* (Hass.) untersucht und mit Leisman-Färbung das Caryosom blau, den Außenkern dagegen rot erhalten; mit der Giemsa-Färbung konnte er Binnenkörper und Außenkern meist nicht deutlich unterscheiden.

Ich habe gemeinsam mit v. Schuckmann über unsere eigenen Färbungsergebnisse am Kern von *Prowazekia* schon früher kurz berichtet (1913) sie stimmen durchaus mit unsern Ergebnissen am Trypanosomenkern und neueren Befunden über den Bau von ruhenden *Limax*-Amöbenkernen überein (vgl. v. Wasielewski und Kühn 1914). In der Mitte des Kernes liegt ein kugelrunder Binnenkörper von dichter, meist ganz gleichmäßiger Struktur; er wird umgeben vom Außenkern oder der Kernrandschicht. Eine eigentliche, morphologisch selbständige Kernmembran ist nicht vorhanden, wenn auch eine feine Niederschlagsmembran die Kernrandschicht vom Zellplasma zu scheiden scheint.

Schon im lebenden Tier läßt sich der Binnenkörper durch sein stärkeres Lichtbrechungsvermögen gut von der Kernrandschicht

unterscheiden, die ihn als schmaler gleichmäßiger Saum umzieht (Fig. 21, 55—57). Bei Vitalfärbung mit sehr stark verdünnter Neutralrotlösung nimmt nach einiger Zeit der Binnenkörper einen schwach rötlichen Ton an, der ihn auch in den lebhaft beweglichen Tieren deutlich hervortreten läßt (Fig. 2). Fällt man die *Bodo*-Zellen unter dem Mikroskop mit 10 %iger Essigsäure, so tritt der Binnenkörper als stark lichtbrechende Kugel scharf heraus (Fig. 7) und verliert dabei etwas an Umfang gegenüber der Kernrandschicht. Diese erscheint im Leben und bei Essigsäurefällung strukturlos; Vitalfarbstoffe nimmt sie nicht an.

Nach ROMANOWSKY-Färbung mit dem GIEMSA-Gemisch und Differenzierung mit Aceton erhält man die Kernkomponenten in klaren Farbengegensätzen. Der Binnenkörper ist rein blau gefärbt (Fig. 8, 11, 45, 46, 48), er ist homogen, ganz selten sieht man kleine bläschenförmige Hohlräume in ihm. Eine feinere Struktur ist an ihm nicht zu sehen. Die Kernrandschicht ist stets rot gefärbt und zeigt sich wie bei den Trypanosomen und Limaxamöben durchsetzt von kleinen bläschenförmigen Lücken, so daß sie ein schaumiges Gefüge erhält (Fig. 8, 11 u. a.). Die rote Masse, welche die Wabenwände bildet, ist homogen oder sehr fein granuliert. Diese Kernstruktur läßt sich mit der GIEMSA-Methode bei sorgfältiger Differenzierung ganz regelmäßig herausarbeiten. Der Farbengegensatz zwischen Binnenkörper und Kernrandschicht tritt stets, ganz wie bei den Trypanosomen (vgl. KÜHN u. v. SCHUCKMANN 1912, p. 340), hervor und zwar sowohl bei dem allmählichen Rückdifferenzieren von dem stark überfärbten Zustand als auch bei der Progressivfärbung. Wenn man die Deckglaspräparate auf der Brücke mit dem GIEMSA-Gemisch färbt und von Zeit zu Zeit den Fortschritt der Färbung in Wasser besieht, so erkennt man deutlich, wie Plasma und Binnenkörper zuerst die blaue Farbkomponente speichern, während die Kernrandschicht lange ungefärbt bleibt und dann gleich den roten Farbton annimmt (Fig. 9, 10). Läßt man die Färbung noch weiter fortgehen, wie das zur vollständigen Ausfärbung des Geißelapparates nötig ist, so wird die Imprägnation mit den Farbstoffen so stark, daß die feineren Unterschiede am Kern verdeckt werden (Fig. 3, 18, 19).

Auch mit Hämatoxylinfärbungen lassen sich die Kernstrukturen schön darstellen, zumal wenn man die Differenzierung unter dem Mikroskop auf der Brücke überwacht. Progressive Färbungen mit Hämatein IA lassen die Kernrandschicht meist nur als hellen Hof ohne Struktur erscheinen (Fig. 13, 14); weiter führt Eisenhämatoxilinfärbung nach HEIDENHAIN: Der Binnenkörper speichert

wie bei allen Protistenkernen den Hämatoxylinfarbstoff sehr stark; beim Ausziehen mit Eisenammoniumalaun gibt oft die Binnenkörpermitte den Farbstoff früher ab als die äußeren Teile des Binnenkörpers (Fig. 16), so daß dieser im optischen Schnitt ringförmig aussieht. Bei starker Überfärbung und geringer Differenzierung ist die Kernrandschicht gleichmäßig grau, etwas dunkler als das Protoplasma gefärbt (Fig. 12), bei weiterem Differenzieren erscheinen die Lücken in der Randschicht, und der Wabenbau des Außenkernes tritt deutlich zutage. Besonders schön ist er stets zu erkennen, wenn man zu der Eisenhämatoxylinfärbung Vorfärbung mit Bordeauxrot oder eine Nachfärbung anwendet; vor allem erwies sich, wie bei der Färbung der Trypanosomen, Lichtgrün geeignet (Fig. 15, 16).

In einigen Präparaten findet man neben dem Binnenkörper, ihm eng angeschmiegt oder etwas von ihm entfernt in der Kernrandschicht, ein Korn, das sich sehr intensiv färbt. Ob wir es hier mit einem regelmäßigen Strukturelement des Kernes zu tun haben, muß offen bleiben. Sowohl bei Färbung mit Giemsa-Gemisch (Fig. 11), als auch mit Hämatein (Fig. 14) und Eisenhämatoxylin (Fig. 16) kam das Korn gelegentlich, aber durchaus nicht immer in allen Individuen zum Vorschein. Über seine Rolle im Kernleben können wir gar nichts sagen. Obschon wir es auch in ein paar Teilungsstadien fanden (z. B. Fig. 40), konnten wir doch sein Schicksal nicht durch den ganzen Teilungsvorgang hindurch verfolgen.

Der Binnenkörper zeigt außer für das Methylenblau des Giemsa-Gemisches noch zu einigen anderen Plasmafarben starke Affinität, so z. B. zu Säurefuchsin, das er nach Sublimat-Alkohol-Essigsäure-Fällung lebhaft aufnimmt (Fig. 17); die Substanz des Außenkernes dagegen nimmt kein Säurefuchsin an.

So stimmt also der Bau des ruhenden Kernes von *Bodo* überein mit dem Kernbau von Trypanosomen und *Limax*-Amöben: der Kern besteht aus einem homogenen Binnenkörper und einem Außenkern von alveolärer Struktur; die beiden Kernkomponenten lassen sich besonders mit der Romanowsky-Färbung scharf färberisch voneinander sondern.

5. Der Geißelapparat.

Von den beiden Geißeln ist, wie bei fast allen von Stein, Klebs u. a. beschriebenen *Bodo*-Arten, die eine nach vorn gerichtet („Hauptgeißel"), während die andere, bei *Bodo edax* die längere, als „Schleppgeißel" nach hinten verläuft. An den lebenden Tieren und an günstig

gelagerten Individuen in den Präparaten kann man sehen, daß die beiden Geißeln nahe beieinander an der Unterseite oder am Rande des Rostrums vom Körper abgehen (Fig. 1, 2, 4, 6, 8, 12, 13, 14, 45 u. a.).

Im Innern des Körpers verlaufen die Geißeln zum „Diplosom", das aus 2 Basalkörnern besteht, wie Hartmann u. Chagas (1910) erkannten, während v. Prowazek (1903) annahm, daß beide Geißeln von einer gemeinsamen „basalkornartigen Verdichtung" entsprängen. Bei „*Prowazekia*" *cruzi* zeichnen Hartmann u. Chagas die beiden Basalkörner in sehr eigenartiger Lage; das eine liegt distal, näher der Oberfläche des Körpers, das andere weiter innen in nächster Nähe des Blepharoplasten (l. c. 1910, fig. 63, 64).

Am lebenden Tier sind die Basalkörner nicht deutlich zu erkennen. In den Präparaten von *Bodo edax* liegen die beiden Basalkörner stets unmittelbar nebeneinander, in gleicher Entfernung vom Blepharoplasten. Ihre Größe ist etwas wechselnd, je nach der Fixierung. Nach Sublimat-Alkohol-Fällung sind sie meist voluminöser (Fig. 8—12, 15, 16, 18, 19) als nach Fixierung mit Sublimat-Eisessig (Fig. 13, 14).

Nach Hartmann u. Chagas ist das „Diplosom" durch eine kurze Fibrille (Rhizoplast) mit dem Blepharoplast verbunden; ob beide Basalkörner an einer Fibrille hängen, oder ob von jedem Basalkorn ein Rhizoplast zum Blepharoplasten zieht, wird nicht angegeben und geht auch aus den Abbildungen der Autoren nicht hervor; in fig. 63 der Autoren scheint zunächst vom distalen Basalkorn zum proximalen eine Fibrille zu ziehen und dann von da ein Fäserchen zum Blepharoplasten. Fig. 62 der Autoren kann wohl nicht als Beleg für das Vorhandensein eines Rhizoplasten angesehen werden; denn hier verläuft die Geißel vom „Diplosom", das hier einfach erscheint, über den Blepharoplasten nach hinten, kann also durch ihren basalen Abschnitt eine Verbindung von „Diplosom" und Blepharoplast vortäuschen.

Wir haben niemals eine solche Verbindung zwischen Basalkörnern und Blepharoplast gesehen. Die Basalkörner liegen nach Sublimat-Alkohol-Fixierung, die auch den Blepharoplasten quellen macht, dem letzteren unmittelbar an. Wenn aber, wie fast stets nach Sublimat-Eisessig-Fällung, ein schmaler Zwischenraum zwischen diesem und den Basalkörnern zu sehen ist, so wird er, wie bei den Trypanosomen nach unseren Beobachtungen, von keiner Fibrille überbrückt (vgl. Kühn u. v. Schuckmann, 1912, p. 364 u. 373, tab. 21, fig. 32, 33, 56, 59 u. a.). Indessen ist der Zwischenraum so gering, daß sich ein sicheres Urteil nur selten geben läßt.

Von besonderer Wichtigkeit für die ganze Auffassung der Morpho-

logie der Bodonen ist der Bau des Blepharoplasten. Den Blepharoplasten hat bei *Bodo*-Arten Klebs (1893) entdeckt (vgl. oben S. 218). Später beschrieb bei einer „*Bodo spec.*“ v. Prowazek (1903) genauer, daß das Diplosom „terminal einem anscheinend strukturlosen homogenen phiolenartigen Gebilde (Geißelsäckchen) ansitzt“, und verglich das „Geißelsäckchen“ mit dem Blepharoplasten von Trypanoplasma. Hartmann u. Chagas (1910) sprechen das Gebilde, wie alle Blepharoplastbildungen, als einen zweiten Kern, als „Kinetonucleus“ an.

Hartmann u. Chagas setzen den Blepharoplasten dem Caryosom des Hauptkernes gleich und halten ihn als „Caryosom des Geißelkernes“ für umzogen von einem hellen Hof, der „Kernsaftzone“ des Geißelkernes. Sie führen aus: „Daß der Geißelkern oder Kinetonucleus hier (bei *Prowazekia cruzi*) in der Tat ein vollständiger Kern ist, leuchtet schon daraus ein, daß wenn Geißeln und Basalkörner schlecht gefärbt sind, er kaum vom Hauptkerne zu unterscheiden ist. Der Hauptunterschied ist der, daß seine Kernsaftzone meist sehr schmal, sein Caryosom dagegen außerordentlich stark entwickelt und oft größer als das des Hauptkernes ist“ (l. c. p. 30). Auch Alexeieff (1911 a) findet um den Blepharoplasten einen „hellen Hof, der außen nicht von einer Membran begrenzt zu sein scheint.“

Unsere eigenen Beobachtungen weichen stark von der Beschreibung von Hartmann u. Chagas ab. Wir haben niemals, weder im lebenden Tier, noch im gut fixierten Präparat einen Hof um den Blepharoplasten gesehen, der irgend wie als ein Strukturbestandteil dieses Körpers angesehen werden könnte.

Im lebenden Tier ist der Blepharoplast als kugliger oder eiförmiger Körper, sowohl bei gewöhnlicher Beleuchtung, als auch im Dunkelfeld, zu sehen. Während am Kern im Leben die Kernrandschicht als „Kernsaftzone“ stets deutlich um den Binnenkörper zu sehen ist, zeigt sich der Blepharoplast stets unmittelbar umgeben von fein granuliertem Plasma (Fig. 1, 2).

Auch in den gefärbten Präparaten stößt das Zellplasma stets unmittelbar an die Oberfläche des Blepharoplasten an (Fig. 8, 12—14, 17—20).

Die Größe des Blepharoplasten im Präparat ist einigermaßen von der Art der Fällung abhängig. Bei Fixierung mit Osmiumsäure, mit Sublimat-Alkohol-Eisessig, mit Essigsäure allein oder mit Formol erhält man ihn etwa in derselben Größe und Form, wie er im lebenden Tier zu sehen ist (vgl. Fig. 4—7, 13, 14, 17, 20 mit Fig. 1, 2). Wesentlich größer und augenscheinlich bei der Fällung gequollen erscheint der Blepharoplast nach Behandlung mit

konzentrierter Sublimatlösung oder Sublimatalkohol (Fig. 8—12, 15, 16, 18, 19). Hier ist er fast immer kuglig und wölbt sich bisweilen über den Umriß des Tieres vor, da das den Blepharoplasten umgebende Protoplasma nicht dieselbe Volumvergrößerung erfahren hat (Fig. 18, 19). Im lebenden Tier und nach Sublimat-Alkohol-Eisessig-Fällung mißt der Blepharoplast bei den Tieren von Durchschnittsgröße 1,4—2,0 μ im Durchmesser; bei den Zwergformen (Fig. 47) kann sein Durchmesser bis auf 0,7 μ sinken.

Im färberischen Verhalten erstreckt sich die Ähnlichkeit zwischen Kern und Blepharoplast, die, wie oben zitiert, Hartmann u. Chagas hervorheben, nur auf Hämatoxylinfärbungen und auch hier nur auf verhältnismäßig grobe Färbungsergebnisse. Hämatein nehmen Blepharoplast und Binnenkörper des Kernes etwa gleich stark auf und erscheinen demnach beide als graue oder schwarze Kugeln (Fig. 13, 14); auch bei Eisenhämatoxylinfärbung kann man beide gleichmäßig schwarz erhalten (Fig. 12). Sobald man aber nach Heidenhain sorgfältig differenziert und eine entsprechende Gegenfärbung anwendet, ist auch bei Hämatoxylinfärbung eine Verwechslung der beiden Strukturteile der *Bodo*-Zelle völlig ausgeschlossen (Fig. 15, 16). In dem „Hof“ um den Binnenkörper des Kernes kommt die färbbare Substanz des Außenkernes zur Darstellung, niemals findet sich ein ähnlicher Außenkern um den Blepharoplasten.

Noch weit schärfer aber tritt der Gegensatz im Bau von Blepharoplast und Kern zutage, wenn man die Romanowsky-Färbung anwendet. Bei progressiver Färbung mit der Giemsa-Lösung nimmt der Blepharoplast sehr bald den roten Farbstoff an und färbt sich vollständig mit ihm durch (Fig. 9, 10). Dabei tritt aber meist zutage, daß die Färbung des Blepharoplasten nach der Mitte zu an Intensität abnimmt. Differenziert man überfärbte Tiere mit Aceton, so geben die inneren Teile des Blepharoplasten die Farbe auch leichter wieder ab als die oberflächlichen Schichten. So erhält man zum Schluß eine dünne, stark gefärbte Mantelschicht an der Oberfläche des Blepharoplasten, die ganz allmählich in die innen schwächer gefärbte Masse übergeht (Fig. 8, 11, 18, 19 u. a.), wobei der Farbenton des Rot aber stets ganz gleich bleibt; blaue Farbe wird vom Blepharoplasten überhaupt nicht gespeichert. Offenbar ist die Substanz des Blepharoplasten gleichartig, aber die Dichte nimmt, mindestens in den mit Sublimat-Alkohol fixierten Präparaten, nach innen zu ab. Ganz entsprechende Bilder von allmählich nach innen abnehmender Färbungsintensität kann man nach langem Beizen und

langem Differenzieren mit der HEIDENHAIN-Methode bei Sublimat-Alkohol-Präparaten erhalten (Fig. 15, 16).

Der scharfe regelmäßige Farbengegensatz im ROMANOWSKY-Präparat zwischen dem blauen Binnenkörper des Kernes und dem hochroten Blepharoplasten ist sicher nicht dazu angetan, die Homologie zwischen Blepharoplast und Caryosom nahe zu legen. Auch noch andere Färbungen bringen ein konstant verschiedenes Verhalten der beiden Strukturteile ans Licht.

Mit Säurefuchsin färbt sich, wie oben bereits erwähnt, der Binnenkörper des Kernes stark, der Blepharoplast bleibt ungefärbt (Fig. 17); mit stark verdünnter Lösung von Methylgrün-Essigsäure färbt sich der Blepharoplast intensiv grün, der Binnenkörper bleibt farblos, während die Kernrandschicht auch einen schwach grünlichen Ton annehmen kann (Fig. 20). Die Affinität der Blepharoplastsubstanz zu dem Methylgrün ist so groß, daß dieses förmlich vom Blepharoplasten aus der Lösung aufgesaugt wird. Wenn die Lösung, in die man das fixierte Präparat legt, so stark verdünnt ist, daß sie im Reagenzglas schwach grünlich und zwischen Deckglas und Objektträger völlig farblos erscheint, so tritt doch die starke Grünfärbung des Blepharoplasten ein. Wenn man gewöhnliches käufliches Methylgrün für die Lösung verwendet, nimmt der übrige Körper der Flagellaten einen rötlich-violetten Ton an; das beruht auf der Anwesenheit von Verunreinigungen mit Methylviolett. Man erhält also eine schwache Doppelfärbung (Fig. 20). Schüttelt man zuvor das Methylviolett mit Amylalkohol aus, so tritt die reine Grünfärbung des Blepharoplasten ein, und Plasmakörper und Binnenkörper bleiben ungefärbt.

Der Geißelapparat von *Bodo edax* ist somit zusammengesetzt aus zwei Geißeln (Hauptgeißel und Schleppgeißel) mit je einem Basalkorn. Die beiden Basalkörner liegen dicht nebeneinander („Diplosom“) und stehen in keiner direkten Verbindung mit dem Blepharoplasten, in dessen nächster Nähe sie liegen. Der Blepharoplast erscheint bei Färbung mit verschiedenen Methoden als eine gleichartig zusammengesetzte Kugel und weist keinerlei an einen Kern erinnernde Struktur auf, unterscheidet sich färberisch scharf vom Verhalten des Binnenkörpers des Kernes und ist allseitig von Zellplasma unmittelbar umgeben.

6. Die Teilung.

A) Übersicht über die Teilungsveränderungen am lebenden Tier.

Die Teilung der Bodonen läßt sich leicht am lebenden Tiere verfolgen im hängenden Tropfen oder zwischen Objektträger und Deckglas. Es waren dabei niemals amöboide Gestaltsveränderungen am Körper der Tiere wahrzunehmen, während Sinton (1912) angibt, daß sich sein Objekt, *Bodo urinarius* (Hass.) in amöboidem Zustand teile. Die in Teilung befindlichen Formen von *Bodo edax* kriechen ebensowenig wie die Wachstumsformen an einer Unterlage, sie schwimmen stets frei. Allerdings kommen sie beim Schwimmen nicht mehr recht von der Stelle, sobald die Verdoppelung des Geißelapparates sich vollzogen hat; denn nun wirken die beiden Geißelapparate gegeneinander. Dieser Umstand erleichtert die Beobachtung sehr.

Als erstes Anzeichen der Teilung fällt am lebenden Tiere das Vorwachsen von zwei neuen Geißeln auf. Sie erscheinen am Vorderende des Tieres neben den zwei ursprünglichen Geißeln. Beide neue Geißeln wachsen etwa mit gleicher Geschwindigkeit, die eine parallel der nach vorn gerichteten Hauptgeißel, die andere rückwärts, parallel der alten Schleppgeißel. Den Blepharoplasten kann man zu dieser Zeit noch deutlich als einfaches Korn im Innern des Tieres erkennen. Allmählich wachsen die neuen Geißeln zur Länge der alten heran und schwingen mit ihnen in gleichem Takt und gleicher Richtung (Fig. 21); unterdessen hat sich auch der Blepharoplast verdoppelt. Der Vorgang der Blepharoplastteilung verläuft sehr rasch und ohne daß sich an der Struktur des kugligen bis eiförmigen Einschlußkörpers eine Veränderung erkennen ließe. Er erscheint während des Vorwachsens der neuen Geißeln größer als in anderen Tieren, dann scheint er sich einfach durchzuschnüren; wir sahen öfters im Verlauf von 1—2 Minuten aus einem Tier mit einem Blepharoplasten eines mit zwei dicht nebeneinander liegenden Tochterblepharoplasten entstehen. Das Hin- und Herwackeln des Tieres und seine Drehungen um die Längsachse lassen es nicht zu, dabei die Gestaltsveränderungen des Blepharoplasten genau zu verfolgen.

Nun verbreitert sich das Vorderende des Tieres und wird zweizipflig. Das lippenförmige Rostrum wird in zwei Lappen auseinandergezogen und die beiden neuen Geißeln rücken von den

beiden alten ab. Das Tier ist herzförmig gestaltet und trägt auf den beiden Zipfeln seines Vorderendes je ein Rostrum mit je zwei Geißeln (Fig. 22). In diesem Stadium sind stets zwei kontraktile Vacuolen vorhanden. Die neugebildeten Geißeln sind schon ebensolang wie die alten, so daß das Doppeltier ganz symmetrisch gestaltet ist. In den Stadien, deren Aussehen bisher besprochen wurde, trifft man die frühen Kernteilungsbilder an. Die Einzelheiten der die Kernteilung einleitenden Vorgänge sahen wir an lebenden Tieren nicht. Doch ein charakteristisches Kernbild kam häufig in lebenden Teilungsstadien zur Beobachtung; allem Anschein nach ist es von besonders langer Dauer. Durch das von Vacuolen durchsetzte Protoplasma schimmert eine Hantelfigur hindurch (Fig. 22—24). Ihre dicken Enden werden von zwei hellen Kugeln von geringem Lichtbrechungsvermögen gebildet, diese werden verbunden durch einen stärker lichtbrechenden Stab von verschiedener Länge, der sich nach den Enden zu etwas verdickt und mit seinen Endanschwellungen etwas in die hellen Kugeln eingelassen ist. Häufig kann man an einem lebenden Tier die Hantel erst kurz und plump sehen und dann beobachten, wie sich der Verbindungsstrang zu einem dünnen Faden streckt (Fig. 23 u. 24).

Die Teilungsfurche schneidet vom Vorderende des Körpers allmählich nach hinten durch, und die Tiere biegen sich auseinander; die Geißeln schlagen dabei heftig, aber die Tiere kommen nicht von der Stelle. Schließlich hängen die beiden Hälften nur durch eine dünne plasmatische Verbindungsbrücke mit den Hinterenden zusammen. Diese Plasmaverbindung kann oft noch ziemlich lange erhalten bleiben und sich zu einem dünnen Faden ausziehen, um den die beiden Tiere sich drehen. Nachdem er endlich abgerissen ist, wird er in das zugespitzte Hinterende der nunmehr selbständigen Tochtertiere eingezogen.

Manchmal kann man einen unregelmäßigen Verlauf der Teilung beobachten: ähnlich wie gelegentlich bei Trypanosomen (vgl. Kühn u. v. Schuckmann 1912 p. 366, fig. 48) eilt die Verdoppelung des Geißelapparates vor der Kernteilung weit voraus. Fig. 23 u. 24 zeigen ein im Leben beobachtetes Tier, an dem schon drei Geißelapparate vorhanden sind, während nur eine einzige Kernfigur in dem oben beschriebenen Hantelstadium in der Richtung der größten Ausdehnung des Tieres sich findet. Offenbar hat eine erste Verdoppelung die am weitesten auseinanderliegenden Geißelapparate bei a und bei b geliefert. An welcher von beiden Stellen die alten Geißeln des Tieres stehen, läßt sich nicht mehr angeben. Später

sind dann bei b oder, wie nach der Form des Tieres wahrscheinlicher, bei a zwei weitere Geißeln gebildet worden und nach Teilung des Blepharoplasten von ihrem Ursprungsorte abgerückt. Die Gesamtform des Tieres wird bei diesen unregelmäßigen Teilungen so gegen die normale Teilungsgestalt (vgl. Fig. 22) verändert, daß man meist ein Vorderende und ein Hinterende nicht mehr unterscheiden kann. Bei dem Tiere der Fig. 23 kann man noch an der c gegenüberliegenden Seite das ursprügliche Hinterende vermuten. So kann es auch schließlich nicht mehr zu regelrechten Längsteilungen kommen; durch ringsum oder von einer Seite her einschneidende Furchen werden später mehrere Tochtertiere voneinander abgeschnitten, wie bei den „gehäuften Zweiteilungen“ oder „multiplen Teilungen“ der Trypanosomen. Fig. 24 zeigt dasselbe Tier, das in Fig. 23 dargestellt ist, 8 Minuten später. Eben beginnt eine Furche sich auszubilden, die das Körperstück mit dem Geißelapparat b abtrennen wird. Diesem Bezirk ist auch bereits ein Kern zugeteilt, nämlich die eine Hälfte der Kernhantel, die sich unterdessen erheblich gestreckt hat; in der anderen Protoplasmahälfte muß noch eine weitere Kernteilung folgen, bevor zwei vollständige Tiere sich voneinander trennen können.

Ab und zu werden bei solchen unregelmäßigen Teilungen auch kernlose Protoplasmastücke mit einem Geißelapparat abgeschnürt. Sie können von sehr verschiedener Größe sein, nehmen aber doch die Gestalt des *Bodo edax* an und schwimmen davon. Ihr weiteres Schicksal wurde nicht verfolgt; jedenfalls werden sie später zugrunde gehen. Auch in fixierten und gefärbten Präparaten von in lebhafter Teilung sich befindenden Kulturen haben wir neben den abnormen Teilungsstadien, die den Bildern Fig. 23 u. 24 entsprechen, kernlose Einzelindividuen mit einem vollkommen normalen Geißelapparat gefunden, die offenbar dem geschilderten Vorgang ihre Entstehung verdanken.

Im folgenden sollen nun die einzelnen Teilungsveränderungen an Kern und Geißelapparat nach gefärbten Präparaten besprochen werden.

B) Die Kernteilung.

Über die Kernteilung von *Bodo* (*Prowazekia*) haben zuerst Hartmann u. Chagas (1910) Angaben gemacht. Nach ihren Befunden handelte es sich bei *Prowazekia cruzi* um einen mitotischen oder „promitotischen“ Teilungsvorgang, der ganz ähnlich verläuft wie die Teilung des „Hauptkernes“ von Trypanosomen nach Rosenbusch

(1909). „Die Teilung des Hauptkernes spielt sich ganz am Caryosom ab und die Kernteilungsfiguren sind hierbei von der ganz strukturlosen Kernsaftzone umgeben“ (Hartmann u. Chagas 1910 p. 30). Es werden von den beiden Autoren nur ganz wenige Stadien aus Eisenhämatoxylinpräparaten beschrieben, die keineswegs eine lückenlose Reihe geben, vielfach sogar nicht recht zueinander passen wollen. „Das früheste Stadium,“ das Hartmann u. Chagas fanden, „zeigt eine breite, tonnenförmige Spindel, an deren Polen je zwei durch einen Faden verbundene Körner, unserer Meinung nach die im Teilungszustande befindlichen Centriolen, sich befinden. Am Äquator liegt quer eine breite Chromatinmasse, die Äquatorialplatte. Bei den späteren Stadien streckt sich die Spindel in die Länge, wobei die Centriolen nicht mehr gesehen werden“ (l. c. p. 31). In der Äquatorialplatte erscheinen nun zwei große „Chromatinkörper“, die sich strecken und durchschnüren und in den Tochterplatten wieder verschmelzen. „Nun folgt sehr rasch die hantelförmige Durchschnürung der Spindel. Die in Rekonstruktion begriffenen neuen Tochterkerne bestehen lange Zeit noch aus zwei getrennten Elementen, einer meist achromatischen Kugel, die aus der Spindel hervorgegangen ist, und einem mehr chromatischen Teil, der von der Tochterplatte stammt“ (l. c. p. 31). Schließlich umwächst der achromatische Teil des Tochterkernes den chromatischen und vereinigt sich mit ihm, wodurch dann wieder das normale Caryosom entsteht.

„Außerdem wurden noch zwei Bilder beobachtet, die auf einen zweiten abgekürzten Modus der Kernteilung hinweisen.“ Auch dieser spielt sich nach Hartmann u. Chagas lediglich am Caryosom ab, während der strukturlose Außenkern seine kuglige Form beibehält. Das Caryosom sondert sich in chromatische und achromatische Substanz, und diesmal liegt die letztere in der Äquatorialzone, während die chromatische Partie sich hantelförmig durchschnürt und zwei Polkappen liefert.

An der Richtigkeit dieser Darstellung von Hartmann u. Chagas hegte schon Gläser (1912, p. 74) einigen Zweifel. Dieser gründete sich auf Beobachtungen an Präparaten von *Prowazekia cruzi*, die Aragão dem Autor demonstrierte. Die zu erwartende Mitteilung von Aragão ist, soviel ich sehe, nicht erfolgt. Doch schreibt Gläser auf Grund dieser Präparate: „Besonders scheinen mir Hartmann u. Chagas die Beteiligung des Außenchromatins übersehen zu haben“ (l. c. p. 74).

Für das Verhalten des Außenkernes in der Teilung hat dann Alexeieff (1911a, 1913) einige Bilder gegeben. Auch er findet

zwei verschiedene Kernteilungstypen bei *Bodo caudatus* (DUJ.) STEIN. Bei der ersten Kernteilungsweise vermehrt sich zu Beginn der Teilung das Außenchromatin auf Kosten des Caryosoms, dann lagern sich Außenchromatin und Caryosom im Kern nebeneinander, das Außenchromatin schnürt sich in zwei Hälften durch, die sich als „Pseudopolkörper“ an die Pole der Kernteilungsfigur lagern, und zwischen beide legt sich das Caryosom hinein. Dieses, häufig aus zwei länglichen Stücken bestehend, schnürt sich nun hantelförmig durch. Während der „Anaphase“ ist das Bild besonders charakteristisch: An jedem Pole befindet sich eine Anhäufung von Außenchromatin, zwischen diesen Pseudopolkörpern liegt die Substanz des Binnenkörpers in Hantelform oder schon in zwei keilförmige Hälften geteilt, die den Pseudopolkörpern ansitzen. In den beiden Tochterkernen wächst der Binnenkörper unter Zuzug von Außenchromatin wieder heran und wird von der Außenchromatinmasse umhüllt.

Bei der zweiten Kernteilungsart schnürt sich nach ALEXEIEFF der Binnenkörper hantelförmig durch und das Chromatin des Außenkernes bildet eine Äquatorialplatte. „Die Teilung ist eine typische Promitose, vollständig vergleichbar der der Amöben der *Limax*-Gruppe.“

Auf eine doppelte Teilungsmöglichkeit lauten auch die kurzen Angaben von SINTON (1912), nach dem die „Äquatorialplatte“ manchmal von Caryosomchromatin, manchmal von Außenkernchromatin gebildet wird.

Nach C. H. MARTIN (1913a) „scheint es, daß bei der Teilung das Caryosom verschwindet und daß das im Caryosom enthaltene Chromatin und das Außenchromatin sich an einem Pol des Kernes anhäuft“ (l. c. p. 455). So kommt eine einseitige Ansammlung der stark mit Eisenhämatoxylin gefärbten Masse im Kern zustande, ähnlich wie sie ALEXEIEFF abgebildet hat. Dann verschwindet die Kernmembran und die „chromatische“ Masse schnürt sich hantelförmig durch. Schon nach den Bildern ALEXEIEFF's ist es kaum fraglich, daß MARTIN, ebenso wie HARTMANN u. CHAGAS, die Beteiligung des nicht mitgefärbten Außenkernes bei der Teilung übersehen hat. MARTIN hat also nur, und zwar im wesentlichen gleich wie ALEXEIEFF, das Verhalten des Binnenkörpers beobachtet.

Unsere eigenen Untersuchungen an *Bodo edax* ergaben mit Eisenhämatoxylin-, Hämatein-, sowie mit ROMANOWSKY-Färbung im wesentlichen eine Bestätigung der Angaben von ALEXEIEFF, der als erster die Kernteilungsweise einer *Bodo*-Art in den Hauptstadien richtig erkannte.

Die ersten Vorbereitungen zur Kernteilung verlaufen sehr eigentümlich. Ich muß gestehen, daß ich anfänglich an der Darstellung von Alexeieff Zweifel hegte; doch die Einordnung dieser Stadien im Teilungsverlauf wird dadurch ganz unzweifelhaft, daß in den Präparaten die betreffenden Kernbilder stets mit den Anfangsstadien der Verdoppelung des Geißelapparates zusammenfallen, die ja, wie die Beobachtung am lebenden Tiere zeigt, den Vermehrungsvorgang eröffnen.

In Tieren, bei denen zwei kurze Geißeln neben den alten zu sehen sind, ist die Lage des Binnenkörpers sehr eigenartig: er nimmt nicht die Kernmitte ein, sondern er stößt an die äußere Begrenzung des Kernes an (Fig. 25—30). Die Form des ganzen Kernes ist zunächst immer noch etwa die Kugelgestalt; aber der eine Teil des Kernes ist gebildet von einer mit Hämatoxylin stark schwärzbaren, mit dem Giemsa-Gemisch blau färbbaren Masse, die eine Kugelkalotte einnimmt; der Rest des Kernes besteht aus einer Substanz von geringerer Dichte, die sich mit Giemsa-Lösung als die alveolarisierte Außenkernmasse zu erkennen gibt (Fig. 25, 26). Es ist also der Binnenkörper aus der Mitte herausgewandert und hat sich neben die Außenkernmasse gelagert.

In der Außenkernmasse macht sich nun eine Teilung in zwei Hälften bemerkbar. Ohne daß sich irgendwie die Struktur der Außenkernmasse veränderte, trennen sich zwei etwa kugelförmige Ballen voneinander (Fig. 27—30). Die Außenkernmasse scheint sich einfach in zwei Teile durchzuschnüren. Allmählich schiebt sich die Substanz des Binnenkörpers, die vorher als Kugelhaube den Kernumfang einnahm, zwischen die beiden Hälften der Außenkernmasse hinein und bildet so eine quer durch die Kernmitte gelagerte Binnenkörperscheibe (Fig. 31). Solche Stadien, wie das in Fig. 31 abgebildete, waren die frühesten, die v. Schuckmann und mir (1913, Fig. B) zu Gesicht kamen, und wir glaubten, sie bildeten den ersten Beginn der Kernteilung und kämen dadurch zustande, daß die Außenkernmasse sich einfach an zwei entgegengesetzten Kernpolen anhäufe. Seitdem habe ich mich aber überzeugt, daß stets in den Tieren, die den Beginn der Geißelverdoppelung zeigen, die erst beschriebenen Kernbilder zu finden sind (Fig. 25—30).

Auch dann, wenn die Außenkernmasse seitlich neben dem Binnenkörper angehäuft ist, und später, wenn sie völlig in zwei Kappen zu beiden Seiten des scheibenförmigen Binnenkörpers zerteilt ist, erkennt man in den Romanowsky-Präparaten deutlich ihre alveoläre

Struktur; die Schaumstruktur der Außenkernmasse bleibt also während des ganzen Teilungsvorganges erhalten.

Nun beginnt sich der Binnenkörper in die Länge zu strecken. Aus der Scheibenform geht er in die Form einer Säule über, welche die Außenkernkappen (die „Pseudopolkörper“ Alexeieff's) allmählich auseinanderschiebt (Fig. 32—35). Mit der Verlängerung wird der Durchmesser der Binnenkörpersäule geringer, und die Außenkernmassen, die anfangs der Binnenkörperscheibe als Kappen aufsaßen (Fig. 31), formen sich zu Kugeln um, die den Enden der Binnenkörpersäule angelagert sind (Fig. 32 ff.).

Nachdem sich die Binnenkörpersäule bis zu einer gewissen Länge gestreckt hat, beginnt sie in der Mitte dünner zu werden und geht dadurch in Hantelform über (Fig. 36, 37). Aber auch nun dauert die Streckung noch fort; das Mittelstück der Hantel zieht sich zu einem dünnen Stabe aus, die Enden der Hantel bilden kleine rundliche oder kegelförmige Knöpfe, die den Außenkernkugeln ansitzen (Fig. 38—40). Damit ist die Binnenkörpersäule in eine charakteristische Gestalt übergegangen, die stark an den „Zwischenkörper“ erinnert, der in dem sonst ganz anders gearteten Teilungsvorgang der *Limax*-Amöben aus der Binnenkörpersäule hervorgeht (vgl. v. Wasielewski u. Kühn 1914, fig. 26—30, p. 279 f.).

Während dieser ganzen Zeit hat sich keinerlei durchgreifende Veränderung in dem feineren Gefüge der Binnenkörpermasse vollzogen; sie färbt sich nach wie vor sehr intensiv mit Eisenhämatoxylin und rein blau mit der Giemsa-Mischung. Während der Streckung der Binnenkörpersäule kann man häufig an dieser eine Streifung erkennen, besonders an scharf differenzierten Giemsa-Präparaten (Fig. 32, 34). Manchmal, allerdings nur recht selten, kann auch die ganze Binnenkörpersäule in mehrere feine parallel gelagerte Säulchen zerfallen sein; ab und zu sah ich auch, wie offenbar Hartmann u. Chagas (1910, fig. 67, 68) und Alexeieff (1911 a, fig. 7), die Binnenkörpersäule aus „zwei länglichen Massen“ bestehen, und eine solche Spaltung der Binnenkörpersäule konnte dann auch noch auf die Endknöpfchen des hantelförmigen Zwischenkörpers übergehen (Fig. 39). Die Regel aber veranschaulichen durchaus die Fig. 33—38, in denen die Binnenkörpersäule einheitlich ist und nur leichte Längsstreifung, vielleicht als Ausdruck einer faserigen Differenzierung, erkennen läßt.

Während nun der Plasmakörper sich einzuschnüren beginnt, dehnt sich der Mittelfaden der Binnenkörperhantel noch mehr. Er kann sich noch durch das dünne plasmatische Verbindungsstück

hindurchziehen, das zuletzt noch die beiden Tochtertiere zusammenhält (Fig. 42, vgl. S. 231). Ja sogar nachdem sich die Tochtertiere schon voneinander getrennt haben, kann manchmal noch der Kernbau der Teilungsendstadien erhalten sein: An einer Kugel von Außenkernmasse sitzt seitlich ein kleines Kügelchen von Binnenkörpermasse an, von dem ein dünner Faden zur Zelloberfläche zieht (Fig. 43).

In den Tochtertieren, ja manchmal schon, bevor sich diese voneinander loslösen, beginnt die Außenkernmasse das Endknöpfchen der Binnenkörperhantel zu umfließen, wodurch dieses zum Tochterbinnenkörper wird. Der dünne Faden, der Rest des Mittelstücks wird anscheinend eingezogen (Fig. 44). Die Stadien der Wiederaufnahme der Binnenkörpersubstanz ins Innere der Außenkernkugeln (Pseudopolkörper) sind nicht leicht zu unterscheiden von den Anfangsstadien der Teilung, in denen der Binnenkörper an die Kernoberfläche hinaustritt (vgl. Fig. 25, 26); nur die Anwesenheit von einem Geißelpaar oder von zweien läßt eine sichere Entscheidung zu.

Bei der Kernteilung von *Bodo edax* teilen sich also die beiden Kernkomponenten, Außenkern und Binnenkörper, ohne eine typische Teilungsstruktur anzunehmen. Am Beginn der Teilung tritt der Binnenkörper an die Kernoberfläche und lagert sich seitlich der Außenkernmasse an; diese schnürt sich in zwei Hälften durch; der Binnenkörper legt sich zwischen diese hinein, streckt sich zu einer Säule und schnürt sich hantelförmig durch; seine beiden Hälften werden als Tochterbinnenkörper in die Hälften der Außenkernmasse aufgenommen.

C) Die Verdoppelung des Geißelapparates.

Über die Verdoppelung des Geißelapparates berichten Hartmann u. Chagas (1910) nur sehr wenig; die vereinzelten Bilder, die sich darauf beziehen lassen, erfahren ihre Deutung auch lediglich durch den Vergleich mit der Beschreibung, die Rosenbusch (1909) von der Verdoppelung des Geißelapparates bei *Trypanosoma*-Arten gegeben hat. Zuerst soll sich der Blepharoplast, der „Geißelkern“ teilen. Nur ein einziges Mal wurde „an Stelle des Geißelkernes eine kleine Spindel mit Äquatorialplatte“ beobachtet. Andere Bilder zeigen eine einfache Durchschnürung des Blepharoplasten: es „kann auch beim Geißelkern die Caryosomteilung sehr rasch (abgekürzt, scheinbar amitotisch) sich vollziehen“ (Hartmann u. Chagas, 1910, p. 32)!

„Die alten Geißeln bleiben mit der einen Tochterhälfte des Kinetonucleus in Verbindung und werden von dem einen Tochtertier

übernommen, während von dem anderen aus ein neues Paar gebildet wird; hierbei entsteht zunächst durch heteropole Teilung seines Caryosoms ein neues Basalkorn" (Hartmann u. Chagas 1910, p. 33). Als Beleg hierfür wird eine Figur gegeben, die an dem einen Tochterblepharoplasten keine Geißeln zeigt, dafür aber ein kleines Körnchen, mit dem Blepharoplasten durch eine feine Fibrille verbunden. Ob das neue Basalkorn sich hernach teilt, und so die beiden Körner des „Diplosoms" entstehen, oder ob nacheinander vom Blepharoplasten aus die beiden Basalkörner für die Hauptgeißel und die Schleppgeißel entstehen sollen, wird nicht erwähnt.

Aus den Figuren von Alexeieff (1911 a, 1913) geht hervor, daß sich bei *Bodo caudatus* die Geißeln vor der Teilung des Blepharoplasten verdoppeln. Genaueres über die Art und Weise, wie dies geschieht, wird nicht berichtet. Die Teilung des „Kinetonucleus" scheint sich nach Alexeieff sehr rasch durch Ausziehen und Durchschnürung zu vollziehen. Die außerordentliche Geschwindigkeit, die auch Hartmann u. Chagas betonen, spricht wohl von vornherein nicht für einen komplizierten „mitotischen" Vorgang, der doch immer einige Zeit erfordert.

Nach Sinton (1912) beginnt die Teilung des Tieres damit, daß aus dem Rostrum zwei neue Geißeln hervorwachsen; darauf teilt sich der Blepharoplast, indem er sich verlängert und durchschnürt.

Nach Martin (1913 a) rückt bei Beginn der Teilung das eine Basalkorn mit der zugehörigen Geißel quer durch den Körper des Tieres nach der anderen Seite. Nach kurzer Zeit stehen auf jeder Seite zwei Geißeln, und der Verfasser nimmt an, daß sich die alten Geißeln gespalten hätten. Im „Kinetonucleus" treten zu Beginn der Teilung zahlreiche distincte Chromatinkörner hervor. Dann schnürt sich der Blepharoplast einfach durch ohne eine Spur von mitotischen Erscheinungen.

So sind also alle späteren Beobachter gegenüber Hartmann u. Chagas darüber einig, daß die Geißelverdoppelung der Teilung des Blepharoplasten vorausgeht, und kein Forscher konnte eine „mitotische" Teilung des Blepharoplasten belegen; doch bestehen über die Art der Geißelverdoppelung noch erhebliche Gegensätze.

Unsere eigenen Befunde beweisen zunächst auch, daß die Verdoppelung des Geißelapparates mit dem Auftreten einer neuen Hauptgeißel und einer neuen Schleppgeißel beginnt. Das zeigen die oben geschilderten Beobachtungen an lebenden Tieren mit aller Sicherheit. Auch die Präparate lassen darüber keinen Zweifel (Fig. 25—33).

Solange die neuen Geißeln noch ganz kurz sind (Fig. 25—30), laufen sie im Innern des Körpers nicht auf ein eigenes Diplosom zu, sondern die Hauptgeißelanlage zieht ganz dicht neben der alten Hauptgeißel hin, die junge Schleppgeißel verläuft zum Grunde der alten Schleppgeißel. In manchen Präparaten hat es den Anschein, als gingen von den beiden Basalkörnern des alten Diplosoms zuerst auch die neuen Geißeln aus (Fig. 27), dann erscheinen die Basalkörnchen verdoppelt, verbreitert oder bisquittförmig (Fig. 25. 26, 28, 30). Indessen sind die Basalkörner so klein und liegen so dicht beisammen, daß man feinere Einzelheiten ihres Verhaltens in diesen Stadien nicht mit Sicherheit erkennen kann; manchmal stellen sie sich wie ein einziger Streifen dar (Fig. 29). Sobald die beiden neuen Geißeln zusammen von den alten abrücken (Fig. 32, 33), findet man an ihrem Grunde zwei eigene Basalkörner, die dicht zu einem Diplosom zusammengedrängt sind.

Es ist wohl kein Zweifel, daß die neuen Geißeln von neu gebildeten Basalkörnern auswachsen. Die Geißeln selbst spalten sich offenbar nicht von den alten Geißeln ab; denn man sieht sie in lebenden Tieren als ganz kurze Fädchen aus dem Rostrum hervorkommen und in die Länge wachsen. Auch in den Präparaten haben die neuen Geißeln freie Enden, auch wenn sie noch so kurz sind.

Es fragt sich nun, wie die neuen Basalkörner entstehen. Daß sie sich neben den alten Basalkörnern im Plasma neu bilden, kann nach dem, was wir von anderen Flagellaten wissen, als von vornherein sehr unwahrscheinlich gelten. Es kann eigentlich nur ihre Bildung vom Blepharoplasten aus oder ihre Entstehung aus den alten Basalkörnern in Frage kommen.

Die Angaben von Hartmann u. Chagas für *Prowazekia* und von Rosenbusch für *Trypanosoma* können nicht mehr als gültige Belege für die Entstehung von Basalkörnern und Geißeln aus dem Blepharoplasten angesehen werden. Denn die Autoren waren sicher über die Zeit der Geißelentstehung völlig im Irrtum. v. Schuckmann und ich konnten (1911, 1912) nachweisen, daß auch bei den Trypanosomen die Verdoppelung der Geißel und des Wellensaumes beginnt, bevor die Teilung des Blepharoplasten erfolgt ist. Die Geißelverdoppelung beginnt mit der Durchteilung des Basalkornes; während dann schon ein gutes Stück weit eine doppelte Geißel und eine doppelte undulierende Membran vorhanden ist, teilt sich erst der Blepharoplast. Wir haben den Eindruck, daß bei den Trypanosomen die Teilung vom Basalkorn aus auf die Geißel und den Wellensaum fortschreiten kann, und sich erst später der neue von dem alten Saumgeißel-

apparat trennt. Doch gibt es sicher auch bei den Trypanosomen Fälle, wo nach der Teilung des Basalkornes die eine Hälfte sich von der anderen Geißel ablöst und nun eine neue Geißel von sich aus vorwachsen läßt. Das ist regelmäßig bei den „Vielteilungen“ von *Trypanosoma lewisi* der Fall, wobei die zahlreichen, durch fortgesetzte Zweiteilung bei verzögerter Plasmateilung neu entstehenden Geißelapparate zunächst überhaupt keine undulierenden Membranen bilden (vgl. KÜHN u. v. SCHUCKMANN 1912, tab. 22, fig. 62).

Auch bei *Prowazekia* erfolgt die Geißelneubildung vor der Blepharoplastteilung, wofür die Figuren 25—33 zahlreiche Belege liefern. Eine Abschnürung der neuen Basalkörner von einem neuen Blepharoplasten ist also unmöglich. Auch für eine Bildung der neuen Basalkörner vom Blepharoplasten aus durch „heteropole Teilung“ vor der Blepharoplastverdoppelung spricht nichts. Dagegen machen die Bilder, die man von den frühen Stadien der Geißelbildung erhält, es durchaus wahrscheinlich, daß sich die beiden alten Basalkörner strecken und durchschnüren, daß die eine Hälfte jeweils mit der alten Geißel in Verbindung bleibt, während von der anderen die neue Geißel vorwächst. Dann rücken die neuen Basalkörner zu einem „Diplosom“ zusammen und machen nun ihre weiteren Ortsveränderungen gemeinsam durch.

So würde also bei *Bodo edax* die Geißelneubildung bestehen in einer Teilung der Basalkörner und darauffolgendem Auswachsen neuer Geißeln aus den neuen Basalkörnern. Der Vorgang stimmt also anscheinend grundsätzlich mit der Weise der Geißelverdoppelung bei den Trypanosomen überein.

Daß die Teilung des Blepharoplasten sehr schnell verläuft (HARTMANN u. CHAGAS, ALEXEIEFF) können wir nach der Beobachtung am Lebenden und nach dem seltenen Vorkommen von Teilungsstadien dieses Organells in den Präparaten bestätigen. Alle in unseren Präparaten vorhandenen Bilder stimmen darin überein, daß mit keiner Färbung sich irgendwelche besondere Strukturveränderungen am Blepharoplasten bei der Teilung nachweisen lassen. Sein Volum scheint zuzunehmen; manchmal erscheint auch in Stadien, die kurz vor der Teilung stehen müssen, seine Kontur weniger regelmäßig kuglig oder eiförmig. sondern etwas unregelmäßig (Fig. 31, 32), wie wenn er in amöboider Formveränderung begriffen gewesen wäre, als seine Substanz ausgefällt wurde. Vielleicht ändert sich auch während der Vorbereitung zur Teilung die Dichte des Blepharoplasten etwas und er schrumpft leichter. Darauf könnten die Unregelmäßigkeiten seiner Form im fixierten Präparat beruhen und auch die verschiedenen

körnigen färbbaren Fällungen, die ALEXEIEFF und MARTIN in diesen Stadien mit Eisenhämatoxylin in ihm erhalten haben.

Einige Individuen in unseren Präparaten zeigen den Blepharoplasten in Längsstreckung und Einschnürung (Fig. 33), seine Tochterhälften wandern rasch auseinander und nehmen an den beiden neuen Vorderenden des zur Herzform übergehenden Tieres Stellung (Fig. 34). Neben fast identischen Kernteilungsstadien findet man den Blepharoplasten noch vor der Teilung, in Durchschnürung begriffen oder bereits geteilt und beide Tochterblepharoplasten schon weit auseinander gerückt (Fig. 32—34), auch ein Beweis dafür, daß die Blepharoplastdurchschnürung viel rascher als die Kernteilung vor sich geht.

Der Zeitpunkt, in dem die Blepharoplastteilung eintritt, wechselt nach den Individuen, aber, wie es scheint, hauptsächlich auch nach dem Zustande der Kultur. In der Regel fanden wir folgende Reihenfolge: zuerst Vorwachsen der neuen Geißeln, dann Beginn der Kernteilung, dann Blepharoplastteilung, dann Ablauf der Kernteilung Während des besonders lang andauernden Stadiums der Streckung der Binnenkörpersäule (vgl. S. 231) holt der Blepharoplast den Kern ein und überholt ihn alsbald, da seine Durchschnürung sehr rasch vonstatten geht. In den Kulturen, von denen die Präparate der Fig. 25—34 stammen, fanden wir die angeführte Folge fast durchweg gültig. In anderen Kulturen, besonders solchen, in denen die unregelmäßigen Teilungen (vgl. S. 231 f.) häufig waren, herrschte größerer Wechsel. Besonders zeigte sich die Kernteilung stark verlangsamt gegenüber der Teilung des Geißelapparates.

Wir gelangen also über die Verdoppelung des Geißelapparates zu folgenden Ergebnissen: Zuerst wachsen von zwei neugebildeten (wahrscheinlich durch Teilung aus den alten entstandenen) Basalkörnern zwei neue Geißeln (eine Hauptgeißel und eine Schleppgeißel) vor, dann teilt sich der Blepharoplast durch einfache Durchschnürung, ohne besondere Teilungsstrukturen anzunehmen.

7. Cystenbildung.

A) Die Ausbildung der Cysten.

Die Einkapselung von *Prowazekia* haben HARTMANN u. CHAGAS (1910) bereits beobachtet und ihren Wert im Entwicklungsgange der Art festgestellt: „Die Cysten sind wie bei *Cercomonas* einfache Dauer-

cysten, doch bleiben dabei die Geißeln in der Regel erhalten" (l. c., p. 33). Autogamiecysten liegen also hier jedenfalls nicht vor. Auch Martin (1913a) und Sinton (1912) haben bei den von ihnen untersuchten *Prowazekia*-Arten die Einkapselung verfolgt.

Da jedoch bisher noch keine Reihe von Bildern für diesen Vorgang gegeben wurde und er bei *Bodo edax* sehr leicht im Leben und im Präparat zu verfolgen ist, will ich hier auch die Cystenbildung kurz beschreiben. Die Flagellaten encystieren sich sowohl auf den Agarplatten als auch in Flüssigkeitskulturen. Anlaß dazu kann langsam eintretendes Austrocknen des Kulturmediums geben; aber auch in Flüssigkeitskulturen, die noch hinreichenden Wasserstand besitzen, um eine ausgiebige Bewegung der Geißlinge zu gestatten, beginnen mit einem Male Cysten aufzutreten, und in kurzem sind kaum mehr frei bewegliche Formen vorhanden. Offenbar löst hier die Zunahme der Konzentration des Nährmediums die Bildung der Dauerzustände aus; mag es nun sein, daß die stärker werdende Konzentration der Nährlösung an sich schon diese Wirkung hat oder daß sich die Bodonen gegen die sich ansammelnden Stoffwechselprodukte ihres eigenen Stoffwechsels oder der Bakterien durch Einkapselung schützen.

Bei der Vorbereitung zur Encystierung nehmen die Vacuolen im Protoplasma ab. Nahrung wird nicht mehr aufgenommen und die Reste verdauter Bakterien oder Hefen werden ausgestoßen. Eine besonders starke Anhäufung von Reservestoffen findet nicht statt; das Protoplasma erscheint ziemlich gleichmäßig dicht. Die Tiere runden sich etwas ab, vor allem verschwindet die ausgesprochene Zuspitzung des Hinterendes. Die beiden Geißeln werden nach hinten geschlagen und meist etwas gewunden an den Körper angelegt (Fig. 49—51). Dabei verkürzen sich die Geißeln ganz offensichtlich. Die Form des Körpers geht allmählich immer mehr zu einem ziemlich regelmäßigen Oval über (Fig. 52). Dann tritt rings um das Tier ein dunkler Saum auf, der sich immer stärker färbt, bis zuletzt eine deutliche, scharf konturierte, aber dünne und einfache Cystenhülle das Tier umgibt (Fig. 53). Während dieser Vorgänge verlangsamt sich, wie Beobachtungen am Lebenden zeigen, die Pulsation der kontraktilen Vacuole immer mehr und hört schließlich ganz auf. Im encystierten Flagellaten war die kontraktile Vacuole niemals mit Sicherheit zu erkennen. Daß sie völlig verschwunden ist, kann nicht behauptet werden. Da sie nicht pulsiert, ließe sie sich nicht von anderen kleinen Plasmavacuolen mit Bestimmtheit unterscheiden.

Aber jedenfalls überdauert sie die Zeit der Eingeschlossenheit nicht in maximalem Füllungszustand.

Wie HARTMANN u. CHAGAS (1910, p. 33) fand ich auch Cysten mit zwei Kernen und zwei Geißelapparaten. Die beiden Autoren führen dies Verhalten auf eine sofortige Längsteilung nach der Encystierung zurück. Kernteilungsbilder habe ich innerhalb von Cysten nicht gesehen. Vielleicht können die Cysten mit verdoppeltem Kern und Geißelapparat dadurch zustande kommen, daß die Einflüsse, die zur Einkapselung führen, in diesem Falle wohl in erster Linie beginnende Austrocknung, auf Tiere wirken, die eben in Teilung begriffen sind und ihnen keine Zeit mehr lassen, den Plasmakörper durchzuteilen.

B) Ausschlüpfen aus den Cystenhüllen.

Gießt man auf eine Kultur, in der sich die Flagellaten eingekapselt haben, frische Flüssigkeit auf, so kann man nach einigen Stunden zahlreiche Bodonen ausschlüpfen sehen. Zuerst wälzen sich die zu neuer Lebenstätigkeit erwachenden Tiere im Innern der Cysten rotierend herum. Da die Cystenhülle dem Körper ganz dicht anliegt, und nicht etwa wie bei manchen encystierten Ciliaten ein Zwischenraum zwischen Körper und Hülle besteht, so macht die Bewegung fast den Eindruck einer rotierenden Protoplasmabewegung. Die Öffnung in der Cystenhülle sahen wir immer an der gleichen Stelle auftreten: ganz nahe an dem einen Ende. Es scheint, daß diese Stelle der Lage des Rostrums oder des Cytostomes in der Cyste entspricht. Vermutlich wird hier ein Secret ausgeschieden, das die Cystenhülle auflöst, oder aber es wird schon bei der Einkapselung hier eine besonders dünne Stelle ausgespart, die nachher den Ausgang bildet. Daß durch die Tätigkeit des Tieres eine bestimmte Stelle für das Ausschlüpfen vorgebildet wird und nicht etwa einfach in der Hülle durch den zunehmenden Innendruck an einer beliebigen Stelle ein Riß entsteht, das beweist außer der regelmäßigen Lage der Öffnung auch der Umstand, daß das Loch stets regelmäßig rund und von gleicher geringer Größe ist.

Zuerst zwängt sich das Vorderende des Tieres aus der Öffnung heraus und sehr bald wird die Hauptgeißel frei (Fig. 55). Die Schleppgeißel beginnt schon schwingende Bewegungen zu machen, während sie noch mit ihrem Ende in der Cystenhülle steckt; doch bald befreit sie sich auch (Fig. 56). Nun zwängt sich etwa im Verlaufe von 5—10 Minuten das Tier durch die enge Öffnung durch, wobei sein

Leib tief sanduhrförmig eingeschnürt wird (Fig. 57) und der meist im Innern des lebenden Tieres gut sichtbare Kern sich sehr in die Länge streckt, wenn der Abschnitt des Tieres, der ihn birgt, durch das Loch durchtritt. Währenddessen nimmt die kontraktile Vacuole ihre Tätigkeit wieder auf; zuerst pulsiert sie noch in größeren Zeitabständen, bald aber stellt sich der gewöhnliche Rhythmus ein. Wenn der Geißling die Hülle verlassen hat, bleibt diese als eiförmige, dünnwandige Kapsel zurück.

8. Besprechung der Ergebnisse über Kern und Geißelapparat.

A) Kernkonstitution und Kernteilung.

Der Kern von *Bodo edax* besteht aus einer schaumigen Kernrandschicht (Außenkern) und einem homogenen Binnenkörper. Mit den verschiedensten Färbungen lassen sich beide scharf gesondert darstellen. Besonders mit der ROMANOWSKY-(GIEMSA)-Methode färben sich Außenkern und Binnenkörper gleichzeitig stark und gegensätzlich. Dieses Verfahren gestattet auch, mit Sicherheit festzustellen, daß Außenkern und Binnenkörper während des ganzen vegetativen Kernlebens, während des Kernwachstums und der Kernteilung, morphologisch voneinander gesondert bleiben, daß also keine färberisch darstellbare Masse aus einer der beiden Kernkomponenten in die andere übertritt.

Eine wichtige Frage ist nun, in welcher der beiden Kernkomponenten man das „Chromatin“ des *Bodo*-Kernes zu suchen hat.

Diese Frage kann nicht von vornherein durch irgendein Färbungsergebnis entschieden werden. Wir kennen keinen absolut spezifischen Chromatinfarbstoff, der als ein chemisches Reagenz über den Chromatingehalt eines Zellteiles Aufschluß geben könnte. Das leistet nur eine eingehende vergleichende Bearbeitung zahlreicher Protistenkerne mit den verschiedenartigsten Farbstoffen und vor allem die „morphogenetische Analyse“, auf deren Wichtigkeit als Erkenntnismittel für die Konstitution der Protistenkerne HARTMANN (1911 a, p. 2) mit Recht nachdrücklich hingewiesen hat. Ob ein Bestandteil eines Protistenkernes Chromatin ist, enthüllt sich dann mit Sicherheit, wenn sich dieser Bestandteil in der Kernteilung wie das Chromatin der Metazoen- und Metaphytenkerne verhält, wenn er sich in besondere Teilungsstrukturen formt, die den Chromosomen der höheren Geschöpfe entsprechen, und durch deren Teilung auf die Tochterkerne übertragen wird.

Hier erhebt sich aber für viele Protistenkerne die große Schwierigkeit, daß ihr Teilungsmodus sich so stark von der typischen Mitose unterscheidet, daß von der Homologie einer der Kernkomponenten in der Teilung mit den Chromosomen der Metazoen und Metaphyten nicht mehr gesprochen werden kann. In diesem Falle kann nun nur vergleichende färberische Analyse zahlreicher Kerne helfen. Wir werden mit Recht einen Kernbestandteil als Chromatin ansprechen, wenn er sich in seinem färberischen Verhalten, in seiner Anordnung im ruhenden Kern und in seinem feineren Gefüge ganz gleich verhält wie der Bestandteil eines anderen Protistenkernes, der in der Kernteilung typische Chromatinteilungsstrukturen annimmt. Wir werden dann ihn als Chromatin ansehen dürfen, das sich jedoch bei diesem Protisten auf eine andere, einfachere Weise auf die Tochterkerne verteilt, als das bei einer mitotischen Teilung der Fall ist. Manchmal werden uns hier noch Eigenschaften anderer Komponenten des Kernes zu Hilfe kommen, nämlich dann, wenn diese sich deutlich so verhalten, daß sie nicht Chromatin sein können; wenn sie durch ihr Verhalten bei der Teilung sich homolog erweisen gewissen nicht-chromatischen Bestandteilen anderer Kerne, deren chromatische Substanz in der Teilung echte Chromatinstrukturen (Chromosomenform) annimmt.

Für *Bodo edax* ist eine Entscheidung über die Chromatinnatur eines Kernbestandteiles durch einfache Verfolgung der Teilung der Form nicht ohne weiteres möglich. Weder die Substanz des Binnenkörpers, noch die Außenkernmasse nehmen Teilungsstrukturen an, die sich wie Chromosomen verhalten. Ein Vergleich mit anderen Protistenteilungen scheint mir aber eine Lösung der Chromatinfrage zu ermöglichen. Ich habe gemeinsam mit v. Wasielewski (1914) die Kernkonstitution und Kernteilung der *Limax*-Amöben (Gattung *Vahlkampfia*) auf Grund eigener Untersuchungen und unter Berücksichtigung der über diese Formen vorliegenden Literatur eingehend analysiert (vgl. v. Wasielewski u. Kühn 1914, bes. p. 306—318). Wir kamen dabei zu dem sicheren Ergebnis, daß das Chromatin des *Limax*-Amöbenkernes im Außenkern enthalten ist, während dem Binnenkörper Chromatingehalt abgesprochen werden muß. Bei der Teilung von *Vahlkampfia mutabilis* und *Vahlkampfia bistadialis* zieht sich die Außenkernmasse bei der Teilung zu einem Äquatorialring zusammen, der sich in eine Anzahl von chromosomenartigen „Kernfäden“ gliedert. Durch Streckung und Durchschnürung dieser Fäden

teilt sich die Mutterplatte (Äquatorialplatte) in zwei Tochterplatten, welche die Außenkernmasse der Tochterkerne liefern.

Der Binnenkörper der von uns untersuchten Vahlkampfien bleibt während des ganzen Kernteilungsvorganges völlig von der Außenkernmasse geschieden. Er bildet die Teilungspole (Polkörper, Polkappen) und dazwischen die „Binnenkörperspindel“ („Binnenkörpersäule“), die den Chromatinfäden als Gleitbahn dient, und die durch ihre Streckung die Polkörper und die Tochterplatten auseinanderstemmt („Zwischenkörper“ der späteren Teilungsstadien). Nach der Teilung gehen Polkörper und Spindelrestkörper wieder in den Tochterbinnenkörper ein.

Im Ruhekern von *Bodo edax* verhält sich nun die Kernrandschicht in Struktur und Färbung ganz genau wie der Außenkern von *Vahlkampfia*. Hier wie dort die spezifische Affinität zu der basischen Rotkomponente (Methylenazur) des GIEMSA-Gemisches, auf deren hohen Wert als „Chromatinfarbstoff“ für Protistenkerne besonders nachdrücklich GIEMSA (1911, p. 20, 23, 25) hingewiesen hat. Bei *Bodo* wie bei *Vahlkampfia* zeigt die mit GIEMSA-Lösung leuchtend rot gefärbte Außenkernmasse die typische Struktur eines von feinen hellen Bläschen durchsetzten Wabenwerkes. Ein Vergleich der *Bodo*-Bilder dieser Arbeit mit v. WASIELEWSKI's und meinen Amöbenbildern (z. B. von Fig. 8, 11, 45 auch 15, 16 von *Bodo edax* mit fig. 1—5 und 37, 38 der Amöbenfiguren) zeigt die vollständige morphologische und färberische Übereinstimmung der Ruhekernstruktur bei *Bodo* und *Vahlkampfia*. Ich halte es darum für berechtigt, auch bei *Bodo edax* in der Außenkernmasse das Chromatin des Kernes zu sehen.

Aber auch das Verhalten des Binnenkörpers bei der Teilung von *Bodo edax* spricht für die Berechtigung einer Homologisierung der Kernkomponenten unseres Flagellaten mit denen der *Limax*-Amöben. Bei beiden Formen spielt in der Teilung der Binnenkörper die Rolle eines locomotorischen Apparates, womit natürlich noch nicht gesagt werden soll, daß damit seine Rolle im Kernleben allein schon ausgefüllt sein müßte. In beiden Fällen stemmt der Binnenkörper durch ähnlich geartete charakteristische Formveränderungen die halbierte chromatische Substanz auseinander. Allerdings ein erheblicher Unterschied besteht im Verhalten des Binnenkörpers bei *Bodo* und bei *Vahlkampfia*: Bei dem Flagellaten geht der ganze Binnenkörper in die Binnenkörpersäule ein, die sich dann zum hantelförmigen „Zwischenkörper“ zwischen den Tochterkernen streckt; bei *Vahlkampfia* wird zur Binnenkörpersäule und

dem hantelförmigen Zwischenkörper nur ein Teil des Binnenkörpers, während er außerdem noch „Polkörper“ liefert. Aber das hängt mit dem grundsätzlichen Unterschied in der Teilungsweise der chromatischen Substanz bei den beiden Formen zusammen. Bei der Amöbe bildet der Binnenkörper von vornherein die Achse der Teilung, um die sich äquatorial das Chromatin ansammelt; so erhält der Binnenkörperstab freie, an das Plasma anstoßende Pole und einen mittleren Teil, den die Chromatinfäden umlagern, und der die Stemmwirkung leistet. Bei *Bodo* aber findet die einfach verlaufende Chromatinzerteilung zu Beginn der Teilung schon statt, die Chromatinhälften nehmen die Teilungspole (als „Pseudopolkörper“ ALEXEIEFF) ein; der Binnenkörper lagert sich dazwischen und entfaltet seine Stemmwirkung. So zeigt das Verhalten des Binnenkörpers bei *Bodo* und bei *Vahlkampfia* eine wesentliche Ähnlichkeit.

Der größte Unterschied zwischen den beiden Kernteilungsweisen liegt in der Verteilung der Außenkernmasse, der chromatischen Substanz, auf die beiden Tochterkerne. Das führt zu der Frage nach der Stellung der Kernteilung von *Bodo* in einem „System der Teilungsweisen“, wie es in letzter Zeit CHATTON (1910), HARTMANN (1911a) und ALEXEIEFF (1913) aufzustellen versuchten. Von diesen Autoren hat sich nur ALEXEIEFF mit einem Teilungstypus beschäftigt, wie ihn der uns vorliegende Flagellat besitzt. HARTMANN ordnet nach den Angaben von ROSENBUSCH (1909) die nach KÜHN u. v. SCHUCKMANN (1911, 1912) und anderen Autoren ebenfalls hierher gehörende Teilung von *Trypanosoma brucei* unter die am Binnenkörper allein ablaufenden Promitosen ein.

ALEXEIEFF (1913, p. 349) bezeichnet die Teilung von *Trypanosoma brucei* und *Bodo* als „Cryto-Haplomitose“ und schließt sie damit engstens an den von DANGEARD (1902) geprägten Begriff der „Haplomitose“ an. Als charakteristisch für diese Teilungsweise wird aufgeführt: 1. Streckung und hantelförmige Durchschnürung des Caryosoms; 2. frühe Verteilung des Chromatins auf die beiden Kernpole (als „Pseudopolkörper“); 3. Anordnung des Chromatins des Außenkernes in Zügen (perlschnurartige Aufreihung von Chromatinkörnchen auf Lininfäden, „Pseudochromosomen, Chromospiren“). — Von diesem Typus unterscheidet sich die „Crypto-Haplomitose“ ALEXEIEFF's (1911c, 1913) durch zwei Merkmale: 1. Das Außenchromatin, das sich im Verlaufe der Teilung in den „Pseudo-Polkörpern“ ansammelt, ist im Außenkern der Teilungsruhe nicht vorhanden und tritt erst

zu Beginn der Teilung aus dem Caryosom heraus; 2. das Chromatin nimmt keine fädige Struktur an.

Mit dem Begriff der Haplomitose im engeren Sinne brauchen wir uns hier nicht zu beschäftigen; zu ihrem Begriff gehört, daß das Außenchromatin bei dem Teilungsvorgang eine spezifische Teilungsstruktur annimmt, die fädig ist, wenn auch eine Bildung von einzelnen echten Chromosomen, die sich durchteilen, unterbleibt. Das Vorkommen dieser Teilungsweise dürfte aber noch fraglich sein. Zum mindesten *Euglena*, nach deren Verhalten DANGEARD den Begriff der Haplomitose prägte, wird nach einer demnächst erscheinenden Mitteilung von TSCHENZOFF aus dem Typus ausscheiden müssen, da hier echte, sich längsteilende Chromosomen in einer Äquatorialplatte vorhanden sind.

Trypanosoma brucei und *Bodo* ordnet ALEXEIEFF dem Begriff der Crypto-Haplomitose unter. Doch muß dann zunächst ein Merkmal ihrer Charakteristik fallen: die Untersuchung mit verschiedenartigeren Färbemethoden als dies bisher geschah hat gezeigt, daß sowohl bei den Trypanosomen (KÜHN u. v. SCHUCKMANN 1911, 1912) als auch bei *Bodo edax* das Chromatin immer im Außenkern auch während der Teilungsruhe vorhanden ist, und daß der Binnenkörper niemals Chromatin enthält. Dann bleibt aber nur noch das zweite Merkmal der Crypto-Haplomitose, und das ist für die Charakterisierung des Teilungsvorganges als „Mitose" rein negativ: das Chromatin nimmt eben keine Fadenform, überhaupt keine spezifische Teilungsstruktur an.

Mir scheint folgerichtig, daß als „mitotischer" Vorgang eine Teilung nur dann bezeichnet wird, wenn das Chromatin eine spezifische Teilungsstruktur annimmt, wenn „Miten", Chromatinelemente (Homologa der Chromosomen), gebildet werden, die durch ihre Durchteilung die Verteilung des Chromatins auf die Tochterkerne bewerkstelligen. Oder aber es muß sich mindestens die chromatische Substanz zu einer soliden „Äquatorialplatte", einem Äquatorialring verdichten (vielleicht bei manchen Vahlkampfien, vgl. v. WASIELEWSKI u. KÜHN 1914, p. 305 f.), den wir, wie bei anderen Kernen als ontogenetische Vorstufe einzelner Chromatinelemente, so auch als phylogenetische Vorstufe einer „mitotischen" Teilungsweise ansprechen können. Kurz es muß irgend eine spezifische Teilungsstruktur des Chromatins vorhanden sein, damit wir von einem „mitotischen Vorgang" im weitesten Sinne sprechen können.

Bei *Bodo edax* macht zwar die Außenkernmasse Veränderungen ihrer Gesamtform durch; in der Kernruhe ist sie eine Schale um den Binnenkörper; in der Vorbereitung zur Teilung tritt der Binnen-

körper aus ihrer Mitte heraus und lagert sich neben sie. Irgendeine durchgreifende Veränderung an ihrer feineren Struktur läßt sich aber auch mit stärksten Vergrößerungen nicht an der Außenkernmasse wahrnehmen; sie bleibt eine gleichmäßige schaumige Masse wie zuvor. Wie bei *Trypanosoma brucei* (vgl. Kühn u. v. Schuckmann, 1912, fig. 23—27) die schaumige Außenkernmasse nach den beiden Polen des stabförmig gestreckten Binnenkörpers einfach abfließt, so weicht sie auch hier (vgl. Fig. 27—30) einfach in zwei Hälften auseinander. Allerdings ein Unterschied besteht: bei *Bodo edax* umhüllt die Außenkernmasse bei ihrer Zerschnürung nicht den Binnenkörper, wie bei *Trypanosoma*, sondern liegt neben ihm; das ändert aber an der grundsätzlichen Übereinstimmung der einfachen Chromatinverteilung unter Wahrung der Chromatinstruktur des ruhenden Kernes nichts.

Folgerichtig müssen wir die Kernteilung von *Bodo edax* und *Trypanosoma brucei*, bei der die chromatische Substanz des Kernes während der Teilung die Struktur beibehält, die sie während der Kernruhe besitzt, als „Amitose“ bezeichnet. Sie stimmt auch grundsätzlich überein mit der amitotischen Teilung, die Schaudinn (1894) bei *Amoeba crystalligera* beschrieben hat. Es ist aber sicher zweckmäßig, diese streng geregelt verlaufenden amitotischen Kernteilungen, welche die normale dauernde Kernvermehrung von Protozoen darstellen, zu trennen von mannigfachen anderen Amitosen; ich schlage deshalb dafür den Ausdruck „Orthoamitose“ vor.

Nach den Untersuchungen von C. H. Martin (1910, 1913) kommen ganz entsprechende Orthoamitosen wie bei den Trypanosomen auch bei den ebenfalls mit den Bodonen nahverwandten, wie sie mit einem Blepharoplasten ausgestatteten Trypanoplasmen vor.

b) Der Geißelapparat.

Der Geißelapparat besteht aus zwei Geißeln, einer nach vorn gerichteten Hauptgeißel und einer Schleppgeißel. Jede Geißel besitzt an ihrem Grunde ein Basalkorn; die beiden Basalkörner liegen dicht nebeneinander und bilden so ein Diplosom oder Doppelkorn. Dicht daneben liegt der Blepharoplast. Bei der Teilung findet eine Verdoppelung des Geißelapparates statt, bei der sicher der Blepharoplast sich teilt, höchstwahrscheinlich auch die Basalkörner sich durchteilen, die neuen Geißeln von den zwei neuen Basalkörnern auswachsen, während die anderen Teilhälften der Basalkörner mit den alten Geißeln in Verbindung bleiben.

Die wichtigste Frage, die sich an den Geißelapparat knüpft, ist die nach der Natur des Blepharoplasten. Von zahlreichen Forschern wird er im Anschluß an Schaudinn, Hartmann und v. Prowazek als zweiter Kern, als „Kinetonucleus“ aufgefaßt. Diese vorliegende Untersuchung über das Verhalten des Blepharoplasten von *Bodo edax* in den vegetativen Stadien dieses Flagellaten kann Belege hierfür nicht liefern. Hartmann u. Chagas homologisieren den Blepharoplasten dem Binnenkörper des Kernes; von diesem unterscheidet sich aber der Blepharoplast dadurch, daß er nicht von einem Außenkern umhüllt ist und sich mit verschiedensten Färbungsmitteln konstant verschieden färbt wie der Binnenkörper. Auch die feinere Struktur des Blepharoplasten weist nicht auf seine Kernnatur hin: er ist ein strukturloses Korn einer gleichförmigen Substanz. Auch seine Teilung erweist keinerlei spezifische Kerneigentümlichkeiten: er schnürt sich einfach durch. Auch seine genetische Beziehung zu dem Rest des Geißelapparates wird durch die vegetativen Stadien nicht belegt: die Basalkörner verdoppeln sich vor dem Blepharoplasten und unabhängig von ihm, die Geißelbildung geht von den Basalkörnern allein aus.

So kann sich also aus dem Verhalten der vegetativen Stadien die Kernnatur des Blepharoplasten nicht beweisen lassen.

Auch widerlegen läßt sich allerdings die Kernnatur des Blepharoplasten aus der Beobachtung seines einfachen Baues und seiner einfachen Teilung nicht. Wenn der Blepharoplast der vegetativen Stadien der „Binucleaten“ auch keine auffallende Übereinstimmung mit dem Bau eines Kernes, auch speziell mit dem Kern (dem „Hauptkern“) der betreffenden Flagellatenzelle zeigt, so könnte er doch genetisch zum Kerne gehören und sich in einem gewissen Stadium des Kernlebens, nach einem Befruchtungsvorgang, von dem „Amphicaryon“ abschnüren, bzw. durch Teilung von ihm abstammen. Auch die einfache Art der Blepharoplastteilung ist kein zwingender Beweis dagegen, daß der Blepharoplast aus Kernmasse bestehen könnte; denn wir kennen bei den Protisten, und gerade bei den betreffenden Flagellatenformen, eben auch sehr einfache Teilungsweisen des Kernchromatins. Man kann sogar darauf hinweisen, daß in der Farbspeicherung eine gewisse Übereinstimmung zwischen dem Blepharoplasten und der Außenkernmasse, dem Chromatin des *Bodo*-Kernes, zutage tritt. Beide färben sich mit der basischen Rotkomponente (Methylenazur) des Giemsa-Gemisches, beide nehmen Methylgrün auf, und dieses ganz besonders der Blepharoplast. Mit Methylgrün färben sich erfahrungsgemäß Nucleine und man hat in der Methylgrünfärbung

manchmal ein verhältnismäßig zuverlässiges Reagens auf „Chromatin“ sehen wollen. So spricht dieses Färbungsergebnis mindestens nicht gegen die chromatische Natur des Blepharoplasten. Doch ist damit natürlich noch kein Beweis dafür gegeben, daß wirklich Chromatin, das Homologon der Chromosomensubstanz, im Blepharoplasten vorhanden ist; denn unsere Kernfärbungen sind eben keine mikrochemischen Reaktionen und färben nach recht oberflächlichen Eigenschaften, vorzüglich Basizität oder Acidität, oft ganz verschiedenartige Zellbestandteile gleich. Der Beweis für die fragliche Kernnatur des Blepharoplasten könnte also nur noch erbracht werden durch die Beobachtung des Verhaltens bei Befruchtungsvorgängen.

Wie über das Verhältnis des Blepharoplasten zum Kernapparat, so sind wir auch über die Funktion des Blepharoplasten in der Zelle zurzeit ganz im Unklaren, da die Beobachtungen von Werbitzki (1910) und von Kudicke (1911) zeigten, daß durch die Wirkung gewisser chemischer Stoffe der Blepharoplast in lebenden Trypanosomen zum Verschwinden gebracht werden kann und diese Blepharoplastlosigkeit sich viele Generationen hindurch erhält. Auch die Verdoppelung des Geißelapparates verläuft an solchen blepharoplastlosen Trypanosomen ganz normal (Kühn u. v. Schuckmann 1911, 1912); sie zeigt sich ebensowenig wie die Bewegung durch den Verlust des als „Kinetonucleus“ angesprochenen Gebildes beeinträchtigt.

Bis wir über die geschlechtlichen Vorgänge bei den Trypanosomen, Trypanoplasmen und Bodonen sicheren Aufschluß haben, ist die „Zweikernigkeitslehre“ lediglich Hypothese und als solche ja immerhin zulässig. Aber es erscheint nicht zweckmäßig, auf eine solche Annahme hin eine systematische Gruppierung von Protozoenformen vorzunehmen, wie dies Hartmann bei der Begründung der Flagellatenordnung der „Binucleaten“ getan hat. Vor allem eine Hinzuziehung der Hämosporidien zu den blepharoplasthaltigen Flagellaten muß Bedenken begegnen und wurde auch meist abgelehnt (vgl. Doflein 1911, Poche 1913, v. Wasielewski 1913). Sicherlich ist es wünschenswert, die mit einem Blepharoplasten versehenen Flagellaten in eine Ordnung oder Unterordnung zusammenzufassen, und das Bedenken Senn's (1911) dagegen scheint mir nicht zwingend; aber eine Zusammenfassung als „Herpetomonatidea“ wäre wohl zweckmäßiger, da sie nicht von vornherein mit einer hypothetischen Voraussetzung belastet wäre.

Freiburg i. Br. Mai 1914.

Literaturverzeichnis.

ALEXEIEFF, A. (1910): Sur quelques points de la structure des „Binucléates" de HARTMANN. C. R. Soc. Biol. Paris T. 68.

— (1911a): Sur la morphologie et la division de Bodo caudatus (DUJ.) STEIN. C. R. des séances Soc. Biol. T. 70.

— (1911 b): Notes sur les Flagellés. Arch. Zool. expér. et gén. ser. 5 T. 6.

— (1911 c): Haplomitose chez les Eugléniens et dans d'autres groupes de Protozoaires. C. R. des séances Soc. Biol. T. 71.

— (1912 a): Notes sur les Herpetomonadidae (= Trypanosomidae DOFLEIN 1911). Arch. Zool. expér. et gén. ser. 5 T. 9.

— (1912 b): Sur la revision du genre Bodo EHRBG. (Réponse à M. le Professeur M. HARTMANN). Arch. f. Protistenk. Bd. 26.

— (1912 c): Quelques remarques à propos de la spécifité parasitaire. Sur le véritable nom de Cryptobia (= Trypanoplasma) intestinalis et sur celui du Trypanosome pathogène des Mammifères; quelques autres questions de synonymie chez les Protozoaires. Zool. Anz. Bd. 41.

— (1913): Systématisation de la mitose dite „primitive". Sur la question du centriole. Arch. f. Protistenk. Bd. 29.

CHAGAS, C. (1910): Über eine neue Trypanosomiasis des Menschen. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Vol. 1.

CHATTON, E. (1910): Essai sur la structure du noyau et la mitose chez les Amoebiens. Faits et théories. Arch. Zool. expér. et gén. ser. 5 T. 5.

DANGEARD, F. (1902): Recherches sur les Eugléniens. Botaniste T. 8.

— (1910): Etudes sur le développement et la structure des organismes inférieurs. Botaniste T. 11.

DOFLEIN, F. (1911): Lehrbuch der Protozoenkunde. 3. Aufl. Jena.

DUJARDIN (1841): Histoire naturelle des Zoophytes. Infusoires. Paris.

GIEMSA, G. (1911): Fixierung und Färbung der Protozoen. Handb. d. pathog. Protozoen. 1. Lief. Leipzig.

GLÄSER, H. (1912): Untersuchungen über die Teilung einiger Amöben, zugleich ein Beitrag zur Phylogenie des Centrosoms. Arch. f. Protistenk. Bd. 25.

HARTMANN, M. (1907): Das Sytem der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

— (1911 a): Die Konstitution der Protistenkerne und ihre Bedeutung für die Zellenlehre. Jena.

— (1911 b): Über die Berechtigung der Flagellatenordnung „Binucleata" und der Gattung „Prowazekia". Eine Erwiderung an A. ALEXEIEFF. Arch. f. Protistenk. Bd. 23.

— (1913): Flagellata. Handwörterb. f. Naturwiss. Jena.

HARTMANN, M. u. CHAGAS (1910): Flagellatenstudien. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Vol. 2.

HARTMANN, M. u. JOLLOS (1910): Die Flagellatenordnung „Binucleata". Arch. f. Protistenk. Bd. 19.

HARTMANN, M. u. v. PROWAZEK (1907): Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. Ein Beitrag zur Lehre von der Doppelkernigkeit der Zelle. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

Jollos, V. (1910): Bau und Vermehrung von Trypanoplasma helicis. Arch. f. Protistenk. Bd. 21.

Klebs, G.: (1893): Flagellatenstudien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 55.

Kudicke, R. (1911): Die Wirkung orthochinoider Substanzen auf Rattentrypanosomen. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 59.

Kühn, A. u. v. Schuckmann (1911): Über den Bau und die Teilungserscheinungen von Trypanosoma brucei (Plimmer u. Bradford). Sitz.-Ber. d. Akad. d. Wiss. zu Heidelberg 11. Abh.

— (1912): Cytologische Studien an Trypanosomen. Zool. Jahrb., Suppl. 15, Bd. 2.

— (1913): Über die Morphologie von Prowazekia. Ber. d. naturf. Ges. Freiburg Bd. 20.

Martin, C. H. (1910): Observations on Trypanoplasma congeri. Part I. The Division of the Active Form. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 55.

— (1913a): Some remarks on the behavior of the kinetonucleus in the division of Flagellates: With a note on Prowazekia terricola, a new Flagellate from sick soil. Zool. Anz. Bd. 41.

— (1913b): Further observations on the Intestinal Trypanoplasma of Fishes, with a note on the Division of Trypanoplasma cyprini in the Crop of a Leech. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 59.

Mathis, C. et M. Leger (1910): Sur un Flagellé, Prowazekia weinbergi n. sp., frequemment observé dans les selles de l'Homme. Bull. Soc. méd.-chirurg. Indo-Chine, 9. oct.

Nägler, K. (1910): Prowazekia parva n. sp., eine weitere freilebende Binucleatenform. Arch. f. Protistenk. Bd. 21.

Poche, F. (1913): Das System der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 30.

Prowazek, S. v. (1903): Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 2.

— (1905): Studien über Säugetiertrypanosomen. I. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt Bd. 22.

— (1910): Einführung in die Physiologie der Einzelligen (Protozoen). Leipzig und Berlin.

Puschkarew, B. M. (1913): Über die Verbreitung der Süßwasserprotozoen durch die Luft. Arch. f. Protistenk. Bd. 28.

Rosenbusch, F. (1909): Trypanosomen-Studien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.

Salvin-Moore u. Breinl (1907): The Cytology of the Trypanosomes. Ann. Trop. Med. Parasit. Vol. 1.

Salvin-Moore, Breinl u. Hindle (1908): The life history of Trypanosoma lewisi. Ibid. Vol. 2.

Schaudinn, F. (1894): Über Kernteilung mit nachfolgender Körperteilung von Amoeba crystalligera. Sitzungsber. Akad. wiss. Berlin.

— (1904): Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochaete. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt Bd. 20.

Senn, G. (1911): Oxyrrhis, Nephroselmis und einige Euflagellaten, nebst Bemerkungen über deren System. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 97.

Sinton, J. A. (1912): Some observations on the morphology and biology of Prowazekia urinaria (Bodo urinarius Hass.). Ann. Trop. Med. Parasit. Liverpool Vol. 6.

Stein, Fr. v. (1878): Der Organismus der Flagellaten. Leipzig.

Wasielewski, Th. v. (1913): Pathogene tierische Parasiten. I. Die schmarotzenden Protozoen. Handb. d. Hygiene Bd. 3 Abt. 3.

WASIELEWSKI, TH. v. u. A. KÜHN (1914): Untersuchungen über Bau und Teilung des Amöbenkernes. Zool. Jahrb., Abt. Anat., Bd. 38.

WERBITZKI (1910): Über blepharoplastlose Trypanosomen. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Vol. 53.

WHITMORE, E. R. (1911): Prowazekia asiatica (syn.: Bodo asiaticus CASTELLANI and CHALMERS). Arch. f. Protistenk. Bd. 22.

Tafelerklärung.

Alle Figuren sind mit Hilfe des ABBÉ'schen Zeichenapparates mit apochrom. Immers. 1,5 und Comp. Oc. 8 von ZEISS (Vergr. ca. 1400) gezeichnet. Zur Angabe der häufiger angewandten Fixierungen und Färbungen dienen folgende durchgehende Bezeichnungen: S.A. Sublimat-Alkohol nach SCHAUDINN, S.A.E. Sublimat-Alkohol-Eisessig, H. Hämatein, E.H. Eisenhämatoxylin, L. Lichtgrün, R. ROMANOWSKY-Färbung.

Tafel 20.

Bodo edax KLEBS.

Fig. 1. Lebend, im Dunkelfeld.

Fig. 2. Lebend, Vitalfärbung mit Neutralrot.

Fig. 3. Tier mit großen aufgenommenen Bakterien. S.A. — R., intensive Färbung, schwache Differenzierung.

Fig. 4. Darstellung der Fettvacuolen mit Osmiumsäure.

Fig. 5 u. 6. Darstellung der Fettvacuolen mit Sudan III nach Formol-Fixierung.

Fig. 7. Fällung der Flagellatenzelle mit Essigsäure.

Fig. 8. Tier mit großer kontraktiler Vacuole. S.A. — R.

Fig. 9 u. 10. Progressive R.-Färbung nach S.A. Fig. 9 früheres, Fig. 10 späteres Färbungsstadium.

Fig. 11. S.A. — R.

Fig. 12. S.A. — E.H.

Fig. 13 u. 14. S.A.E. — H.

Fig. 15 u. 16. S.A. — E.H. — L.

Fig. 17. Färbung mit Säurefuchsin nach S.A.E.

Fig. 18 u. 19. S.A. Intensive R.-Färbung, geringe Differenzierung zur vollständigen Darstellung des Geißelapparates.

Fig. 20. Essigsäurefällung. Färbung mit Methylgrün.

Fig. 21—24. Teilungsstadien im Leben.

Fig. 21 u. 22. Normale Teilungsstadien. Fig. 23 u. 24. Vorauseilen der Verdoppelung des Geißelapparates vor der Kernteilung. In Fig. 22—24 Hantelstadium der Kernteilung.

Fig. 25—44. Stadien der Kernteilung.

Fig. 25 u. 26. Vorwachsen von zwei neuen Geißeln, Lagerung von Binnenkörper und Außenkernmasse neben einander. Fig. 25 S.A.E. — E.H., Fig. 26 S.A. — R.

Fig. 27—30. Vorwachsen von zwei neuen Geißeln, Sonderung der Außenkernmasse in zwei Teile, Hineinlagerung des Binnenkörpers zwischen die beiden Außenkernhälften. Fig. 27—29 S.A.E. — E.H., Fig. 30 S.A. — R.

Fig. 31. Lagerung des Binnenkörpers als „Binnenkörperscheibe“ zwischen den Außenkernhälften („Pseudopolkörpern“). S.-A. — R.

Fig. 32. Beginn der Streckung der Binnenkörperscheibe zur „Binnenkörpersäule“, an dieser Streifung (faserige Struktur?) zu bemerken, Auseinanderrücken der neuen „Diplosome“. S.A. — R.

Fig. 33. Durchschnürung des Blepharoplasten. S.-A. — R.

Fig. 34 u. 35. Stadien der Streckung der Binnenkörpersäule; ein Vergleich der Fig. 32—35 zeigt, wie schnell die Blepharoplastteilung im Verhältnis zur Kernteilung verläuft. Fig. 34 S.A. — R., Fig. 35 S.A.E. — E.H.

Fig. 36 u. 37. Beginn der Umformung der Binnenkörpersäule in eine Hantel. Fig. 36 S.A.E. — E.H. Fig. 37 S.A. — R.

Fig. 38—40. Streckung der Binnenkörperhantel. Fig. 38 u. 39 S.A. — R., Fig. 40 S.A.E. — E.H.

Fig. 41. Beginn der Durchschnürung des Plasmakörpers. S.A.E. — E.H.

Fig. 42. Durchteilung des Plasmakörpers fast vollendet. S.A. — R.

Fig. 43. Einzeltier, unmittelbar nach einer Teilung, der Kern noch im Endstadium der Teilung, Rest des Mittelfadens der Binnenkörperhantel. S.A.E. — E.H.

Fig. 44. Binnenkörper einseitig in der Kernrandmasse gelegen, wohl Endstadium einer Teilung (möglicherweise auch erster Beginn einer Teilung ?, vgl. Fig. 25, 26). S.A.E. — E.H.

Fig. 45—48. Zwergtiere. Fig. 45, 46, 48 S.A. — R., Fig. 47 S.A.E. — E.H. — L.

Fig. 49—54. Ausbildung der Cysten. S.A. — R.

Fig. 54. Cyste mit zwei Kernen und zwei Geißelapparaten.

Fig. 55—58. Ausschlüpfen der Flagellaten aus den Cysten, nach dem Leben gezeichnet. Fig. 58 leere Cystenhülle.

(Mitteilung aus dem Bakteriologischen Institut in Sofia.)

Zur Kenntnis der Sarkosporidien.

Von
Dr. Theodor Moroff.

(Hierzu Tafel 21—24 und 2 Textfiguren.)

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Einleitung	257
Technik	259
I. Spezieller Teil	260
1. Verteilung der Sarkosporidien	260
2. Histologische Verhältnisse des Sarkosporidienschlauches	261
a) Schlauchhülle	261
b) Schlauchinhalt	266
c) Struktur der Sicheln	267
3. Entstehung der Sicheln	270
a) Entstehung der Pansporoblasten	272
b) Umwandlung der Pansporoblasten in Sicheln	285
4. Auflösung der Sicheln	291
5. Junge und Anfangsstadien der Sarkosporidienschläuche	296
II. Allgemeiner Teil	299
1. Über die Natur der Sarkosporidien	299
III. Literaturverzeichnis	311
IV. Tafelerklärung	314

Einleitung.

Die Sarkosporidien oder MIESCHER'sche Schläuche, wie man sie in der älteren Literatur nach ihrem Entdecker bezeichnet, haben eine äußerst große Verbreitung. Sie dürften wohl bei allen Grasfressern der Säugetiere regelmäßig vorkommen. Mitunter sind sie auch bei manchen Fleischfressern gefunden worden. Ihr Vorkommen wurde auch bei manchen Reptilien (Geko) und Vögeln festgestellt. Bei manchen Tierspezies gehören sie zu den gewöhnlichsten Erscheinungen. Nicht selten sind sie bei allen untersuchten Individuen der betreffenden Art zu finden, dabei oft in einer so kolossalen Menge, daß alle Muskeln des Körpers von ihnen durchsetzt sind.

Trotz dieser großen Verbreitung und des Umstandes, daß sie der Wissenschaft seit vielen Jahrzehnten bekannt sind und eine umfangreiche Literatur darüber existiert, sind unsere Kenntnisse über die Sarkosporidien äußerst mangelhaft. Weder die Art der Infektion, noch ihre Entwicklung sind uns wenigstens in großen Zügen bekannt. Ja wir sind nicht einmal über die Struktur dieser Gebilde genügend unterrichtet, so daß die Ansichten der einzelnen Forscher darüber weit auseinander gehen.

Alle diese Umstände in Betracht ziehend haben wir uns — mein Freund Prof. Dr. JOSEF FIEBIGER und ich — Anfang 1909 entschlossen, zwecks einer Ermittelung des Entwicklungscyclus, sowie des feineren Baues dieser rätselhaften Protozoengruppe ausgedehntere Untersuchungen darüber anzustellen. Ich muß gleich hervorheben, daß wir diese Untersuchungen von dem Standpunkte aus vornahmen, daß wir es in diesen Gebilden mit parasitischen Protozoen zu tun haben. An die Möglichkeit, daß es sich hier auch um etwas anderes als allein um parasitische Protozoen handeln könnte, haben wir damals nicht gedacht.

Im Laufe unserer Forschung wurden aber immer mehr Eigentümlichkeiten dieser Gebilde aufgedeckt, die sich mit unseren Begriffen über die Protozoen nicht in Einklang bringen lassen, so daß ich immer mehr an ihrer Protozoennatur zu zweifeln anfing. Schließlich bin ich zur Überzeugung gekommen, daß wir in diesen Gebilden es mit keinen parasitischen Protozoen zu tun haben, daß es sich hier vielmehr um Veränderungen von Elementen handelt, die zum Organismus selbst gehören. Darüber haben wir mit unserem Mitarbeiter viel diskutiert, wir konnten uns jedoch nicht einigen. Seine Einwände werde ich erst in dem Schlußkapitel — bei der

kritischen Behandlung aller Einwände, die für und gegen meine Auffassung sprechen — in Erwägung ziehen. Zu einem Kompromiß haben wir ebenfalls nicht kommen können.

Ich bat daher meinen Freund, Herrn Prof. Dr. JOSEF FIEBIGER, einen Bericht über die bei der Untersuchung zutage geförderten Resultate zu erstatten. In der Tat hat er eine vorläufige Mitteilung in Form eines Vortrages in den Verhandlungen der zoologisch-botanischen Gesellschaft in Wien veröffentlicht. Ich war auch aus privaten Gründen gezwungen, Wien zu verlassen, so daß wir leider die Untersuchungen nicht mehr gemeinsam weiter fortsetzen konnten.

Ich habe mich aber auch weiter für diese Frage interessiert und meine Untersuchungen mit kleineren oder größeren Unterbrechungen auch in Sofia weiter fortgesetzt und die darüber erscheinende Literatur mit besonderer Aufmerksamkeit verfolgt. Zu meinem großen Mißbehagen habe ich aber bei allen darüber erscheinenden Arbeiten einen gemeinsamen Mangel feststellen müssen — eine Voreingenommenheit der Forscher, daß es sich hier um parasitische Protozoen handelt. Die Folge dieser Voreingenommenheit äußert sich in der Weise, daß man alle Erscheinungen, die sich mit unseren Begriffen über die Protozoen nicht in Einklang bringen lassen, durch allerhand Hypothesen zu erklären sucht. Hier erwähne ich nur eine der letzten Arbeiten, diejenige von ALEXEIEFF, die, zweifelsohne von den bisher über dieses Thema in der letzten Zeit erschienenen, eine der besten ist.

Nach langem Zögern habe ich mich schließlich entschlossen, meine Auffassung vor das öffentliche Forum zu stellen. Dies tue ich einmal in der Überzeugung, daß ich damit der Wissenschaft sogar in dem Falle einen Dienst erweise, wenn sich meine Auffassung als irrtümlich erweisen würde; zweitens weil ich eine Reihe von Beobachtungen zusammenzutragen hoffe, die man zum Teil unbeachtet ließ, zum Teil ungenügend gewürdigt hat; drittens, weil ich in dieser Abhandlung eine schärfere Kritik auf die bisherige Deutung der verschiedenen Beobachtungen zu üben versuchen werde, und schließlich weil ich mich mir selbst gegenüber verpflichtet fühle, mich für eine Auffassung zu stellen, die meine Überzeugung geworden ist, auch in dem gegebenen Falle, wo diese Auffassung bei mündlichen und brieflichen Besprechungen von den namhaftesten Protozoenforschern als nicht diskutierbar abgelehnt wird.

Die bisher erschienene Literatur — insbesondere die neuere — wird an geeigneten Stellen im Texte selbst ihre gebührende Würdigung finden.

Wie erwähnt, wurde die Untersuchung in Wien gemeinsam mit meinem Freunde Prof. Dr. Josef Fiebiger im Zoologischen Institut der k. u. k. tierärztlichen Hochschule angefangen und zum größten Teil ausgeführt; nachdem ich nach Sofia übersiedelte, wurde sie selbständig von mir im Bakteriologischen Institut weitergeführt. Meinem trefflichen Freunde Herrn Prof. Dr. Josef Fiebiger schulde ich für das kameradschaftliche Mitarbeiten sowie für das äußerst rege Interesse, das er während unseres gemeinsamen Arbeitens, sowie später der Forschung entgegenbrachte, sowie der anregenden Unterhaltung und der wertvollen Ratschläge herzlichsten Dank. Er hat mir außerdem mit der größten Bereitwilligkeit die in Wien gemeinsam angefertigten Präparate und Zeichnungen nach Sofia geschickt, wodurch mir die Untersuchung sehr erleichtert wurde; dafür bin ich ihm ebenfalls sehr dankbar. Zu einem besonderen Dank bin ich auch dem Leiter des Bakteriologischen Instituts, Herrn Dr. Michael Ivanoff, für alle Unterstützungen, die er mir während meiner Untersuchung zuteil werden ließ, verpflichtet.

Technik.

Bei unserer Untersuchung stand uns zuerst ein reiches Material aus dem Ösophagus des Büffels zur Verfügung, später haben wir auch die Sarkosporidien des Schafes dazu herangezogen. Vergleichsweise haben wir die Sarkosporidien des Rindes, Pferdes und des Schweines in den Kreis unserer Untersuchungen mit einbezogen. Das Material haben wir meistens aus dem Schlachthause des 2. Bezirks Wien bezogen resp. selbst gesammelt. Für die neuen Präparate, die ich während meiner Untersuchung in Sofia habe anfertigen müssen, habe ich in dem Schlachthause hier selbst gesammelt.

Als Fixierungsmittel wurden Sublimat-Alkohol-Eisessig, Sublimat-Eisessig, Chrom-Osmium-Essigsäure (Flemming, stark) und Bouin's Gemisch angewendet. Die ersten zwei Fixierungsgemische haben mir die besten Resultate gegeben. Gefärbt wurde mit Hämatoxylin nach Delafield, mit Mayer's Hämalaun und mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. Auch trockene Präparate wurden nach Giemsa gefärbt. Jede Färbung hat ihre Vorzüge. Die besten Präparate wurden durch die Eisenhämatoxylinmethode nach Heidenhain erzielt; sie haben uns die klarsten Bilder gegeben. Die verschiedenen Färbungsmittel wurden entweder selbständig angewendet oder in Kombination

mit Eosin. Dadurch wurde ein schärferer Kontrast zwischen Protoplasma und Kern erzielt. Wir haben auch Serienschnitte angefertigt. Die Schnittdicke variierte zwischen 5—10 μ.

I. Spezieller Teil.

1. Verteilung der Sarkosporidien.

Die Verteilung der Sarkosporienschläuche in den verschiedenen Tierspecies sowie in den Organen derselben ist bis jetzt zu oft beschrieben worden, so daß ich mich der Verpflichtung enthoben fühle, weitere Worte darüber zu verlieren.

Hier will ich nur erwähnen, daß die Sarkosporidien vornehmlich in der Muskulatur vorkommen. Nur bei zwei Marsupialiern (Känguru und Opossum) wurden sie von v. WASIELEWSKI und S. T. DARLING auch in den übrigen Gewebsarten beschrieben. Beim ersterwähnten Tier wurden sie in der Submucosa der Eingeweide, beim letzteren im Bindegewebe, im Darmtrakt, im Drüsengewebe und in der Lunge gefunden. Ferner wurden sie von CH. BESNOIT et ROBIN in den knotigen Verdickungen, die in der Haut des Euters, sowie in den Vorder- und Hinterbeinen einer Kuh saßen, festgestellt.

Beim Büffel und bei dem Schafe sind sie am häufigsten im Schlunde und im Herzen anzutreffen; in dem ersterwähnten Organ können sie mitunter in einer kolossalen Menge vorkommen. Hier will ich noch hervorheben, daß die jüngeren Schläuche mehr in den tieferen Schichten des Ösophagus zu sehen sind; je größer jedoch sie sind, desto oberflächlicher treten sie heraus. Die größten Schläuche treten gewöhnlich warzenförmig über die Oberfläche des Ösophagus hervor. Oft stehen sie nur durch eine dünne Verbindungsbrücke mit der Oberfläche des letzteren in Verbindung. Wenn man solche Schläuche zerzupft, kann man in den meisten Fällen konstatieren, daß sie keine Sicheln mehr enthalten. Meistens besteht ihr Inhalt aus einer durchsichtigen oder schwach opaliszierenden Flüssigkeit. Diese Beobachtungen lassen den Schluß zu, daß die Schläuche zwischen den Muskeln selbst angelegt werden, daß sie jedoch später immer mehr gegen die Oberfläche hin ausgedrängt werden; gleichzeitig hiermit erfolgt auch die sukzessive Auflösung der darin eingeschlossenen Sichelkörper.

Hier werde ich gleich auf die ausführliche Darlegung der mikroskopischen Verhältnisse eingehen, wobei ich es als zweckmäßiger erachte, die Beschreibung der

2. Histologischen Verhältnisse des Sarkosporidienschlauches

voranzustellen.

Wie bekannt, treten die Sarkosporidien in Form von Schläuchen auf, die fast ausschließlich in den Muskelfasern verteilt sind. Jeder Schlauch besteht aus einer Hülle und aus einem Inhalt. Sowohl über die Struktur der Schlauchhülle, als auch über den Inhalt des Schlauches sind die Meinungen der einzelnen Forscher weit auseinandergehend; ja in den meisten Punkten widersprechen sie sich sogar. Daher müssen wir ihnen eine ausführliche Beschreibung widmen.

a) Schlauchhülle.

Die Hülle der Sarkosporidienschläuche weist die verschiedenartigste Struktur auf. Diese Verschiedenheit in der Struktur ist nicht allein bei Schläuchen aus verschiedenen Tierarten zu konstatieren, sondern sogar bei Schläuchen eines und desselben Tieres. Ja wenn wir sogar die Schnittserie eines und desselben Schlauches verfolgen, so können wir eine weitgehende Variabilität in der Struktur seiner Hülle konstatieren. Es steht außerhalb des Rahmens dieser Abhandlung, alle möglichen Variationen in der Hüllenstruktur zu beschreiben. Hier werden wir uns nur mit der Darstellung einer Anzahl typischer Bilder begnügen, die uns in die Lage versetzen werden, uns ein richtiges Urteil über die Natur der Schlauchhülle zu bilden.

Bei ganz jungen Schläuchen, in deren Innerem noch keine Kammerbildung sich findet, jedoch die Differenzierung einer Schlauchhülle bereits erfolgt ist, besteht letztere aus einzelnen Stäbchen, die senkrecht zur Oberfläche des Schlauches stehen und dicht aneinander gepreßt sind. Sie rufen den Eindruck von Kanälchen hervor. Diese Stäbchen machen einen steifen Eindruck und sind manchmal glänzender, ein anderes Mal stärker gefärbt als ihre Umgebung. Bei genauerem Beobachten kann man an geeigneten Stellen konstatieren, daß diese Stäbchen nichts anderes darstellen als die Fortsetzung von Muskelfibrillen, die oft direkt in diese Stäbchen übergehen. Die Grenze zwischen beiden wird durch die

abweichende Färbbarkeit der Stäbchen hervorgerufen. In den meisten Fällen wird diese Grenze noch dadurch verstärkt, daß durch eine mehr oder minder starke Abknickung die beiden Bildungen unter einem bestimmten Winkel zusammenstoßen. Bei der Durchsicht vieler Präparate gelingt es, die nötigen Stadien aufzufinden, die uns zur Annahme berechtigen, daß diese Stäbchen umgewandelte Muskelfibrillen darstellen. Fig. 1 stellt einen jungen Schlauch dar, an dem man die Differenzierung einer Hülle feststellen kann. Unten rechts gehen die die Hülle zusammensetzenden Stäbchen kontinuierlich in die Muskelfibrillen über; weiter nach oben haben sie bereits eine deutliche Abknickung erfahren. Textfig. A stellt einen Teil eines Schnittes durch einen ebenfalls ganz jungen Schlauch dar. Die die Schlauchhülle bildenden Stäbchen weisen eine gestreifte Struktur auf, wie wenn sie aus einzelnen Wimpern bestehen würden. (Der Wimperbesatz der Autoren!) Auch für diese Stäbchen ist nicht schwer festzustellen, daß sie veränderte Muskelfibrillen darstellen.



Textfig. A.

Bei erwachsenen Schläuchen lassen sich an ihrer Hülle zwei, nicht selten sogar drei Schichten feststellen, die sich vornehmlich durch ihre verschiedene Struktur voneinander unterscheiden lassen. Doch ist man nicht überall in der Lage, mehrere Schichten an der Hülle zu unterscheiden. Oft findet man Schnitte, wo die Hülle nur aus einer Schicht besteht. Nicht selten bekommt man auch solche Stellen zu Gesicht, an denen eine Hülle überhaupt nicht zu konstatieren ist, so daß der Schlauchinhalt direkt an die Muskelfibrillen anstößt. Wenn man die Schnittserie eines Schlauches verfolgt, kann man leicht konstatieren, daß in den meisten Fällen die Struktur der Hülle ununterbrochen wechselt, woraus man erschließen kann, daß die Schlauchhülle eines Sarkosporidiums keine einheitliche Bildung darstellt. Vielmehr stellt sie eine Summe von Muskel- und teilweise von Bindegewebssubstanz dar, die verschiedene Stadien ihrer Umwandlung aufweisen.

Daß die Schlauchhülle ein Umwandlungsprodukt der Muskelfibrillen resp. des Bindegewebes darstellt, kann man am besten aus Stellen ersehen, bei denen der Umwandlungsprozeß nicht so weit gediehen ist, so daß die für die Muskelfibrillen typische Querstreifung noch ganz deutlich zu erkennen ist. Fig. 2 stellt eine solche Stelle

dar. Hier kann man leicht zwei scharf getrennte Schichten an der Hülle feststellen, von denen sich die innere heller färben läßt als die äußere; außerdem weist sie eine deutliche Längsstreifung auf; in der Mitte dieser Schicht ist ein schmaler Streifen zu sehen, an dem man die für die Muskelfibrillen typische dunklere und hellere Querstreifung unterscheiden kann. Es unterliegt keinem Zweifel, daß wir es hier mit einer echten Muskelfibrille zu tun haben. Die übrigen Streifen stellen ebenfalls veränderte Muskelfibrillen dar, nur daß hier die Veränderung so weit vor sich gegangen ist, daß man die Querstreifung nicht mehr unterscheiden kann. Nach innen zu steht diese Schicht in unmittelbarer Berührung mit dem Schlauchinhalt, der hier eine mittelstarke Schicht von unregelmäßigen bis polygonalen, dicht aneinandergepreßten Körpern darstellt; nach außen hin stößt sie an die äußere Schicht der Schlauchhülle an. Diese letztere zeichnet sich durch ihre stärkere Färbbarkeit aus. Sie besteht aus in verschiedenen Richtungen verlaufenden Stäbchen; diese letzteren sind ihrerseits aus einzelnen Punkten (Körnchen) zusammengesetzt. Beim genaueren Zusehen kann man leicht konstatieren, daß diese aus einzelnen Körnchen zusammengesetzten Stäbchen die Querschnitte von weitgehend veränderten Muskelfibrillen darstellen; außerdem sind diese Fibrillen nicht senkrecht, sondern etwas schief getroffen. Nach außen stößt diese Schicht unmittelbar an die Muskelbündel an, die gerade an dieser Stelle ebenfalls vom Schnitt schief getroffen worden sind, so daß sie in ihrer Struktur an die äußere Hüllenschicht des Schlauches erinnert.

Eine Unterscheidung von zwei Schichten an der Hülle ist nur an dieser Stelle möglich. Wenn man das Präparat langsam unter dem Mikroskop verschiebt, so kann man leicht verfolgen, wie die äußere Schicht immer dünner wird, bis sie schließlich vollkommen verschwindet, so daß man an der Hülle nur eine — die innere — Schicht mehr unterscheiden kann, die jetzt etwas dicker aussieht. Die von der inneren Schlauchhülle nach innen abgehenden Kammerwände besitzen ebenfalls eine feingranulierte Struktur, so daß eine scharfe Grenze zwischen ihnen und ersterer für gewöhnlich nicht existiert. Manchmal sind die Wände jedoch etwas feiner granuliert, wodurch zwischen der inneren Schlauchwand und den Kammerwänden eine deutliche Grenze hervorgerufen wird. Deutlich granulierte Struktur weisen die Kammerwände nur an den Ausgangsstellen von der Schlauchhülle. Je weiter sie zum Schlauchzentrum hin verlaufen, desto undeutlicher wird die Granulierung, bis schließlich die Scheidewände sich in eine strukturlose Membran umwandeln.

In Fig. 3 ist an der Schlauchhülle nur eine Schicht zu konstatieren, die aus länglichen Gruppen ganz feiner Stäbchen besteht. Beim genaueren Zusehen kann man feststellen, daß wir hier Querschnitte von bereits in Auflösung begriffenen Muskelfibrillen vor uns haben und daß wir in der Struktur der Schlauchhülle mit einer bis zum gewissen Grade bereits alterierten Cohnheimischen Felderung zu tun haben. Nach außen hin geht diese Schicht unmerklich in das Bindegewebe über. Nach innen zu geht sie ebenfalls, ohne eine scharfe Grenze zu bilden, in eine sehr fein granulierte Schicht über, in der die „Sporoblasten" eingebettet sind.

In Fig. 4 weist die Schlauchhülle eine ähnliche Struktur auf wie in der vorhergehenden Figur, nur daß sie hier unmerklich in die innere feingranulierte Schicht übergeht. Da man andererseits aus diesem Schnitte ebenfalls sehr deutlich ersieht, wie die innere Schicht direkt in die Wände übergeht, die die Kammerbildung im Schlauch hervorrufen, so muß man zur Schlußfolgerung kommen, daß Schlauchhülle nnd Kammerwände eines und desselben Ursprungs sind. Wir haben also in den Kammerwänden und der Schlauchhülle eine und dieselbe Bildung vor uns. Andererseits geht die Schlauchhülle hier ebenfalls unmerklich in das umgebende Gewebe des Tieres über.

In Fig. 5 weist die Schlauchhülle eine ganz abweichende Struktur auf. Zu innerst ist eine ganz schmale, feingranulierte Schicht zu sehen, von der breite Wände nach innen abgehen. Nach außen von ihr folgt eine breitere Schicht, die aus vielen einzelnen wirr durcheinander verlaufenden Stäbchenreihen besteht. Analog den vorhergehenden Bilder dürften wir es hier mit einer in Auflösung begriffenen Muskelfibrillenschicht zu tun haben. Nach außen von ihr sehen wir eine weit breitere Schicht, die schwächer gefärbt ist. Sie besteht ebenfalls aus vielen Stäbchenreihen, die aber bedeutend undeutlicher sind als diejenigen, die sich in der inneren Schicht befinden. Offenbar ist der Zerfall der Muskelfibrillen hier bedeutend weiter vorgeschritten. Wahrscheinlich ist die innere Schicht von Muskelfibrillen gebildet worden, die resistenter waren als die nach außen von ihnen gelegenen. Die äußere Schicht schließt nach außen wiederum mit einer dichteren Schicht ab, zwischen ihnen ist keine scharfe Grenze zu konstatieren. In der breiten Schicht der Hülle sind viele Kerne verteilt, die eine ähnliche Struktur aufweisen wie die Sporoblasten (die Kerne), die sich innerhalb des Schlauches befinden.

Fig. 6 ist ebenfalls einem Schlauche aus dem Büffel entnommen.

Hier können wir wenigstens an der gezeichneten Stelle keine Schlauchhülle feststellen. Die Muskelfibrillen laufen entweder an den polygonalen Kernen vorbei, indem sie sich dicht an sie anschmiegen, oder sie laufen senkrecht den letzteren zu und brechen an der Berührungsstelle plötzlich ab. Wenn man die Schnittserie verfolgt, kann man jedoch konstatieren, daß an anderen Stellen eine wohl ausgebildete Schlauchhülle existiert.

In Fig. 10 sind ähnliche Verhältnisse aus einem aus dem Hammel stammenden Schlauch gezeichnet. Hier gehen die Muskelfibrillen ebenfalls direkt an die „Sporoblasten“ (Kerne) heran und kommen in eine unmittelbare Berührung mit ihnen.

Da die Schlauchhülle bei den Hammelsarkosporidien dieselben Verhältnisse aufweist wie beim Büffel, so will ich davon Abstand nehmen, weitere Bilder darüber zu geben.

In der ganzen Hülle sind eine große Anzahl von Kernen eingeschlossen, die in ihrer Struktur weitgehende Differenzen aufweisen und über die ich in einem späteren Kapitel ausführlicher berichten will. Hier sei nur erwähnt, daß Alexeieff diese Kerne ebenfalls bemerkt und in seinen Bildern gezeichnet hat. Er spricht in seiner Abhandlung an einigen Stellen jedoch nur von einem Kern, den er als den Kern der Wirtszelle ansieht, in welchen der Parasit eingedrungen ist.

Auch in bezug auf das Färbungsvermögen sind einige Umstände hervorzuheben, welche zugunsten der Annahme sprechen, daß wir in der Schlauchhülle mit aus dem Wirte stammenden veränderten Gewebsteilen zu tun haben. Die äußere Schicht, die in ihrem Umwandlungsprozeß nicht so weit vorgeschritten ist, läßt sich mit Hämalaun und Eisenhämatoxylin nach Heidenhain stark dunkel färben, mit van Gieson färbt sie sich rot, nach Man stark blau. Die nächste Schicht nach innen färbt sich durch Eosin rötlich; dieselben färberischen Eigenschaften weisen auch die Scheidewände im Innern des Schlauches auf. Es sind jedoch auch hier alle möglichen Übergänge zu konstatieren, bei denen man feststellen kann, wie mit der allmählichen Umbildung des Gewebes eine Veränderung in bezug auf sein Färbungsvermögen erfolgt.

Aus allen Bildern geht die Richtigkeit der vorhin geäußerten Ansicht über die Natur der Schlauchhülle und der Kammerwände hervor. Bald nachdem wir — mein Freund Prof. Dr. Fiebiger und ich — unsere Untersuchungen begonnen hatten, haben wir festgestellt, daß die Hülle der Sarkosporidien, sowie die im Innern des Schlauches verlaufenden Scheidewände keine Bildung des vermeint-

lichen Parasiten, sondern eine Veränderung der Muskelfibrillen des Wirtes selbst darstellen. Bei der Durchsicht der Literatur haben wir jedoch ersehen, daß diese Ansicht nichts Neues darstellt, daß sie hingegen für die Schlauchhülle bereits von VIRCHOW (1865) geäußert worden ist. Sie wurde jedoch von den späteren Forschern nicht akzeptiert und ist daher fast in Vergessenheit geraten.

Neuerdings hat sich auch ALEXEIEFF (1913) dieser Ansicht angeschlossen. Durch seine Studien ist er, wie es scheint, unabhängig zu dieser Schlußfolgerung gekommen. In der vorläufigen Mitteilung sowie in seinem Lehrbuch der tierischen Parasiten (1912) drückt sich Prof. FIEBIGER aus, daß man den Eindruck bekommt, als ob nur die Schlauchhülle ein Veränderungsprodukt der Muskelsubstanz wäre. Ich weiß nicht, ob dies auf die kurze Fassung seiner Mitteilung zurückzuführen ist, oder ob er auch in diesem Punkte meine Auffassung nicht geteilt hat. Jedenfalls vertrete ich diese Ansicht noch von Anfang an.

Die anderen Autoren sahen die Schlauchhülle mit den nach innen abgehenden Scheidewänden als eine ektoplasmatische Ausscheidung des Parasiten selbst an. Sie werden mit ähnlichen Bildungen bei den Cnidosporidien analogisiert.

Durch unsere Feststellung fällt, wie dies in unserer vorläufigen Mitteilung von meinem Freunde Prof. FIEBIGER hervorgehoben wurde, auch die Analogisierung mit der Streifenkapsel der Cnidosporidien weg. Als Ursache der Veränderung der Muskelsubstanz bei der Bildung der Schlauchhülle sehen wir den Schlauchinhalt an. Die einzelnen Elemente des Schlauchinhaltes vermehren sich und wachsen auf Kosten der umgebenden Muskeln und Bindegewebe. Offenbar wird durch die Ausscheidung bestimmter Enzyme die Muskelsubstanz zur Auflösung gebracht, wahrscheinlich auch durch den starken Druck, den der heranwachsende Schlauch auf seine Umgebung ausübt, ungünstig beeinflußt. Bei diesem Vermehrungs- und Wachstumsprozeß des Schlauchinhaltes wird die Muskelsubstanz einfach verbraucht.

b) Schlauchinhalt.

Die nach innen von der Schlauchhülle abgehenden Wände verbinden sich vielfach miteinander und bilden verschieden große Kammern. In diesen letzteren ist der Inhalt des Schlauches verteilt. In einem mittelgroßen oder erwachsenen Schlauch besteht sein Inhalt aus einzelnen Körpern, die an Größe, vor allem aber in ihrer Form, stark variieren.

. Die Körper der äußersten Kammern sind gewöhnlich rund; nach innen zu nehmen sie jedoch plötzlich eine Sichelgestalt an. Nicht selten sind jedoch auch solche Fälle zu beobachten, bei denen die Sicheln auch in den äußersten Kammern verteilt sind, so daß sie direkt an die Schlauchhülle anstoßen; ja manchmal sind sie sogar in der Hülle selbst verteilt. Die äußersten Kammern sind regelmäßig dicht mit diesen Körpern überfüllt. Nach innen zu werden jedoch diese letzteren lockerer, so daß in der Mitte des Schlauches die Kammern in einer ansehnlichen Ausdehnung vollkommen frei von ihnen sind. An ihrer Stelle sind gewöhnlich eine größere Menge kleiner Körnchen zu sehen.

Von allen Forschern wird nun der Schlauchinhalt als Parasit angesehen. Man wird in der Behauptung nicht fehlgehen, daß von der Entdeckung der Sarkosporidien bis heute vornehmlich die sichelförmige Gestalt der meisten der Gebilde es war, die die Forscher veranlaßt hat, sie als parasitische Protozoen anzusehen. Es ist nun leicht begreiflich, daß jeder Forscher, der sich sogar nur einigermaßen mit der Erforschung der Sarkosporidien befaßt hat, bestrebt war, sich Klarheit über die Struktur und über die Art und Weise der Ausbildung der Sichelkeime zu verschaffen.

c) Struktur der Sicheln.

Die Sichelkörper stellen längliche drehrunde oder schwach abgeplattete Körper dar, die an den beiden Enden stumpf zugespitzt sind. Ihr Name verrät ihre Gestalt, welche von Janin (1907) sehr zutreffend mit der einer Banane verglichen wird. Sie erreichen eine Länge von 15—18 μ bei einer Breite von 4—5 μ. Was die innere Struktur dieser Körper anbelangt, so können die Ansichten der Forscher in zwei Gruppen geteilt werden. Der eine Teil schreibt diesen Gebilden eine Struktur zu, die ähnlich der Struktur der Merozoiten resp. der Sporozoiten eines Coccidiums oder einer Gregarine sind. Die anderen Forscher vertreten in bezug auf die Struktur der Sicheln eine Auffassung, die diese Gebilde sehr den Sporen eines Myxosporidiums nähert.

Bei einer mittelstarken Vergrößerung betrachtet, kann man in der Sichel in vielen Fällen, infolge der Verteilung der sich in letzterer befindenden Einschlüsse, mehrere Regionen unterscheiden, was auch Alexeieff getan hat. Mit allerstärkster Vergrößerung genauer angesehen, verschwinden jedoch diese Regionen vollkommen. In einem solchen Falle weist die Sichel eine mehr gleichmäßig fein-

gekörnelte Struktur auf. Nicht selten ist eine sehr deutliche wabige Struktur wahrzunehmen. In der Mitte der Sichel beschreibt ALEXEIEFF eine länglich schmale Vacuole, die oft auch oberflächlich liegt. Eine ähnliche Vacuole haben wir manchmal ebenfalls beobachtet, doch möchten wir sie als Ausdruck einer beginnenden Spaltung (Zweiteilung) der Sichel ansehen. Außerdem findet ALEXEIEFF am hinteren Ende sowie in der Mitte der „Spore" je eine Vacuole, die sich mit Lygol gelb färbt. Er homologisiert diese Vacuolen mit einer in der Spore der Myxosporidien vorkommenden jodfärbbaren Vacuole. Solche jodophile Vacuolen sind uns nicht zur Beobachtung gekommen. In der Sichel ist eine größere Zahl von sich stark färbenden Körnchen verteilt, die von RH. ERDMANN (1910) als metachromatische, von ALEXEIEFF als sphärische Körper bezeichnet werden (Fig. 27—29). In den zentraleren Kammern des Schlauches befinden sich diese Körperchen mehr in der vorderen Hälfte der Sichel. Bei einem Teil der Sicheln sind sie ziemlich regelmäßig verteilt, bei einem anderen Teil zeigen sie eine Tendenz, sich gegen die Spitze hin zu konzentrieren.

Betrachtet man hingegen Sicheln, die aus mehr oberflächlicheren Kammern des Schlauches stammen, mit starker Vergrößerung, so kann man leicht feststellen, daß diese Körperchen in einer weit größeren Menge vorhanden sind, als in den vorhin beschriebenen Fällen (Fig. 7). Bei manchen Sicheln sind die einzelnen Körnchen in den Anhäufungen leicht voneinander zu unterscheiden, bei anderen, wo die Konzentrierung weiter vorgeschritten zu sein scheint, kann man die einzelnen Körperchen nicht mehr auseinander halten. Man sieht in einem solchen Falle nur einen sich gleichmäßig stark färbenden Haufen. Nun scheint aber dieser Haufen bald in Auflösung zu geraten, da man in Kammern, die unmittelbar nach innen folgen, meistens die zuerst beschriebenen Sicheln zu sehen bekommt (Fig. 27—29). Wenn man die Sicheln der verschiedenen Kammern eines und desselben Schnittes betrachtet, so muß man zum Schlusse kommen, daß in den zuletzt gebildeten (in den jüngsten) Sicheln sehr viele sich schwarz färbende Körperchen gebildet werden, die sich bald aufzulösen beginnen, so daß, je älter die ersteren sind, desto weniger Körnchen in ihnen vorhanden sind.

Die Auflösung der einzelnen Körnchen erfolgt offenbar ziemlich plötzlich, da man meistens keine Übergänge zu sehen bekommt. Bei längerem Durchsehen der Präparate kann man jedoch immerhin manche Übergangsstadien der Auflösung zu Gesicht bekommen, die sich in einer mehr verschwommenen Färbung der Körnchen kund-

geben. Man sieht nämlich in den Sicheln einzelne sich blaß färbende Fleckchen, die annähernd die Größe der schwarz gefärbten Körner aufweisen (Fig. 28).

Nach Alexeieff könnten diese sphärischen Körperchen entweder Reservestoffe oder Zymogen darstellen. Er ist geneigt, sie eher als Zymogenkörperchen anzusehen. Da ich diese Körperchen als Prosektete betrachte, nähern sich unsere Ansichten in dieser Hinsicht einander sehr.

Da die Sicheln von allen Forschern als Protozoen angesehen werden, so wird ihnen selbstverständlich auch ein Kern supponiert, indem manche Bildungen in ihrem Innern als solche gedeutet werden. Die Ansichten der einzelnen Autoren gehen aber in dieser Hinsicht sehr weit auseinander. Die meisten Autoren suchen den Kern in dem dickeren Ende der Sichel. Dieser Kern besteht nach ihnen aus einer beträchtlichen Zahl runder Körnchen, die etwa die Größe der sphärischen Körperchen aufweisen. Darunter soll sich ein Körperchen entweder durch seine Größe oder durch sein abweichendes Färbungsvermögen auszeichnen, das als Caryosom gedeutet wird. Die den Kern zusammensetzenden Chromatinkörnchen zeichnen sich von den sphärischen Körperchen durch ihr abweichendes Färbungsvermögen aus. Mit Eisenhämatoxylin werden letztere weit stärker gefärbt als jene, so daß der Kern bei der Differenzierung meist vollkommen entfärbt wird. Delafield und Meyer's Hämalaun färben hingegen intensiver die den Kern zusammensetzenden Körnchen. Die metachromatischen Körnchen bleiben ungefärbt. An Präparaten, die mit Giemsa gefärbt worden sind, zeigt dieses Ende eine deutlich abgegrenzte ovale Stelle, die sich durch ihre feine netzförmige Struktur auszeichnet. In den Knotenpunkten dieses Netzwerkes sind rote Körnchen eingelagert.

Nach manchen Autoren besitzt dieser Kern eine ganz dünne Membran. Wiederum andere Autoren können aber keine Kernmembran feststellen (Alexeieff).

Rh. Erdmann sieht jedoch den Kern der übrigen Autoren als die Polkapsel (den Fadenapparat) des Sarkosporidiums an. Den wirklichen Kern des Parasiten sieht sie in einem Körnchen an, das sich in der anderen Hälfte der Sichel befindet. Dieses Körnchen dürfte wohl dem von Watson (1909), Prowazek (Taschenbuch der mikroskop. Technik der Protistenuntersuchung II. Aufl. p. 69), von Rátz (1908) und von Betegh entdeckten Körperchen entsprechen und welches von diesen Forschern zum Teil als Centrosom gedeutet wird. Letztere Forscher vergleichen dieses Körperchen mit dem

Blepharoplast der Flagellaten und mit dem Nebenkern gewisser Protozoen. LAVERAN et MESNIL haben sehr oft zwei solche Körnchen gesehen; diese letzteren nehmen eine periphere Lage ein. Nach CRAWLEY weist der Kern eine kompakte Struktur auf, ähnlich wie der Kinetonucleus der Trypanosomen. Ich brauche kaum zu erwähnen, daß man solche vereinzelte Körnchen sehr oft sieht, die aber unserer Meinung nach nichts anderes als sphärische Körnchen darstellen, die sich von den übrigen etwas stärker entfernt haben.

VAN EECKE (1892), LAVERAN et MESNIL (1899), WATSON (1909), RH. ERDMANN (1910) schreiben dem Sichelkeim auch eine Polkapsel zu, aus der sie nicht selten auch einen Faden ausgeschleudert sahen. Wir haben keinen solchen Faden oder Polkapsel feststellen können. ALEXEIEFF (1913) bestreitet ebenfalls die Existenz eines Polfadens resp. einer Polkapsel. Die an dem einen Ende fast regelmäßig zu beobachtende spirale Streifung der Sichel wird von PERRIER (1907) und ALEXEIEFF wohl mit Recht auf eine Schrumpfung der Sichel zurückgeführt. An Präparaten, die nach GIEMSA gefärbt worden sind, weist dieses Ende für gewöhnlich einen homogenen Farbenton auf.

Von M. KOCH (1902), VAN EECKE (1892) und L. PFEIFER (1890) wird eine eigenartige Bewegung der Sicheln beschrieben. Von den meisten übrigen Autoren wird jedoch diese Bewegung bestritten. Wir haben ebenfalls keine eigenartige Bewegung an den Sicheln feststellen können.

Um die wahre Natur der Sicheln verstehen zu können, müssen wir die Art und Weise ihrer Entstehung, sowie ihr weiteres Schicksal verfolgen.

3. Entstehung der Sicheln.

Noch mehr wie über die Struktur herrscht aber zurzeit über die Entstehung der Sicheln eine völlige Unklarkeit. Wie bekannt, erfolgt, nachdem einmal ein Schlauch angelegt wird, ihr weiteres Wachstum infolge einer starken Vermehrung des Schlauchinhaltes. Es werden andauernd neue Sicheln gebildet. Die Bildung der letzteren denkt man sich in einer ähnlichen Weise, wie die Bildung der Sporen der Myxosporidien.

In ganz jungen Stadien besteht der Inhalt eines Schlauches, nach einer Anzahl von Autoren, aus vielen rundlichen Kugeln von 5—6 μ, welche nach Analogie mit den Myxosporidien als Pansporoblasten bezeichnet werden. Durch eine lebhafte Vermehrung dieser

kugelförmigen „Pansporoblasten“ entstehen nach den meisten Autoren andere kugelförmige Körper zweiter Ordnung, die als Sporen bezeichnet werden, früher auch RAINEY'sche Körper genannt. An diesen Sporen bildet sich eine Membran aus. Gleichzeitig wird in ihnen auch der Kern deutlicher. Von diesen runden Körpern bildet sich allmählich die definitive Sichelform aus. An den beiden Enden des Schlauches, sowie unmittelbar unter der Schlauchhülle sollen durch Teilung ununterbrochen neue Pansporoblasten (Sporoblasten) gebildet werden. Die innersten Sporoblasten wandeln sich in Sicheln um, die übrigen — die äußersten — vermehren sich durch Teilung weiter. Auf diese Weise soll das ununterbrochene Wachstum des Schlauches vor sich gehen. Parallel mit dem Wachstum des Schlauches erfolgt die Auflösung der sich in seinem Zentrum befindenden Sicheln. Dadurch entstehen die leeren Kammern in der Mitte des Schlauches.

Betrachten wir mit einer mittelstarken Vergrößerung einen Schnitt, der durch die Mitte eines größeren Schlauches geht, so sehen wir gewöhnlich, daß der größte Teil der Kammern entweder vollkommen leer ist, oder es sind nur vereinzelte Sicheln in letzteren zu sehen. Die äußersten zwei Kammerreihen sind hingegen vollgestopft mit rundlichen Körpern. Manche darunter, besonders in den nach innen gelegenen Kammern, weisen die bekannte sichelförmige Gestalt auf. Unmittelbar an der inneren Oberfläche der Schlauchhülle anstoßend, befinden sich jedoch andere sich blaß färbende Anhäufungen, die aus einzelnen länglich schmalen Körpern bestehen, iu denen gewöhnlich einzelne sich stärker färbende Körper zu sehen sind. Die sich blaß färbenden Anhäufungen werden von allen Autoren als Pansporoblasten angesehen, d. h. als das junge Stadium in der Entwicklung des Parasiten, das durch eine ununterbrochene Teilung das Wachstum der letzteren resp. des Schlauches unterhält.

Zu einer solchen Annahme kann man nur bei einer oberflächlichen Betrachtung der Schnitte kommen. Studiert man jedoch die letzteren sorgfältiger durch, so stellt man sehr bald fest, daß die runden Körper — die RAINAY'schen Körper — nur Querschnitte von Sicheln sind. Das Sporoblastenstadium existiert also nicht. Die Sicheln haben eine parallele Richtung mit der Oberfläche der Schlauchhülle. Daher werden sie von Schnitten, die durch die Mitte des Schlauches gehen, quer getroffen. Nur Sicheln, die auch in der Ebene der Schnittrichtung liegen, werden ihrer Länge nach getroffen; in einem solchen Falle weisen sie ihre typische Form auf. Daß wir es in den sogenannten Sporoblasten mit Querschnitten von

Sichelkörpern zu tun haben, kann man sich am besten, außer durch höheres und tieferes Einstellen des Mikroskops, auch an oberflächlichen Schnitten überzeugen, die gerade den Schlauch anschneiden, die also parallel der Oberfläche des letzteren verlaufen. Auf solchen Schnitten sehen wir nur Sicheln. Es bleiben nur noch die sogenannten Pansporoblasten übrig, die in der Regel den Ursprung der Sicheln geben.

Wir müssen daher zuvor die

a) Entstehung der Pansporoblasten

verfolgen.

Zuerst wollen wir aber die Verhältnisse, die uns an oberflächlichen Schlauchanschnitten entgegentreten, ausführlicher beschreiben. Fig. 7 stellt eine kleine Partie eines solchen Schnittes dar. Die Schlauchhülle weist eine grobgekörnelte Struktur auf; dann folgt nach innen eine Zone von feingekörneltem, sich stärker färbendem Plasma, an dem die bereits in Ausbildung begriffenen Sicheln anstoßen. Die meisten Sichelkörper haben bereits ihre definitive Form angenommen. Daß sie jedoch im Moment ihrer Bildung getroffen worden sind, kann man aus dem Umstande erschließen, daß nur das eine Ende derselben frei — deutlich umgrenzt — ist. Das andere Ende ist gewöhnlich noch nicht differenziert. Hier gehen die Sichelkörper unmerklich in die granulierte Masse über. Offenbar stellt diese fein granulierte Masse die Matrix dar, aus der sich die Sicheln herausdifferenzieren. Denn bei einer sorgfältigeren Beobachtung findet man alle Übergangsstadien. Gewöhnlich sieht man in der fein granulierten Masse viele, an Größe variierende, sich stärker färbende Körnchen zerstreut, die als einzelne Zeichen dienen, um die sich nun das Plasma in Streifen sondert. Man begegnet jedoch nicht selten auch solchen Stellen, wo sich die Umrisse der Sicheln abzuzeichnen beginnen, in denen jedoch keine solchen Körnchen festzustellen sind.

In anderen Schläuchen zerfällt die granulierte Masse zuerst in einzelne unregelmäßige oder rundliche Körper, die aber bald die sichelförmige Gestalt annehmen. Außerdem weist die Zone, in welcher die Differenzierung der Sicheln erfolgt, in vielen Fällen auch eine wabige Struktur auf (Fig. 8).

Es entsteht nun die Frage: Auf welche Weise stellt diese Zone eine ständige Quelle neuer Sicheln dar? Es sind dabei zwei Möglichkeiten ins Auge zu fassen. Erstens kann man die Annahme

machen, daß hier eine Vermehrung durch Wachstum und Teilung dieser Zone stattfindet, wobei der innere Teil derselben sich ununterbrochen in Sicheln umwandelt, der äußere sich jedoch weiter vermehrt und teilt. Für diese Annahme finden wir keine Beweise. Die zweite Möglichkeit besteht in der Annahme, daß das Wachstum dieser Zone durch eine ununterbrochene Zuwanderung von neuen Elementen von außen — durch Apposition — erfolgt. Nach der Durchsicht vieler Präparate habe ich mich zu dieser zweiten Annahme entschlossen.

Sogar bei einer flüchtigen Beobachtung sieht man in der Schlauchhülle eine größere Menge von Kernen, die stellenweise gleichmäßig verteilt sind; an manchen Stellen sind sie jedoch stärker angehäuft. In bezug auf ihre Struktur und ihr Färbungsvermögen weisen diese Kerne ebenfalls eine weitgehende Differenz auf. Auch ihre Form ist weiten Schwankungen unterworfen.

Die in der äußersten Schicht der Schlauchhülle befindlichen Kerne zeichnen sich meistens dadurch aus, daß sie chromatinreich sind. Sie bestehen aus einem dichten chromatischen Gerüst, in welchem größere Chromatinbrocken eingelagert sind. Manchmal ist das chromatische Gerüst so dicht, daß die Kerne sehr stark gefärbt erscheinen, und es ist an ihnen nicht selten fast keine Struktur mehr zu unterscheiden. Der inneren Oberfläche der Schlauchhülle zu verlieren diese Kerne immer mehr an Färbbarkeit. Nicht selten bekommt man Kerne zu Gesicht, besonders solche, die sich in der inneren Schicht der Schlauchhülle befinden, deren äußere Hälfte noch stark gefärbt und von dem umgebenden Plasma scharf abgegrenzt ist; in ihrer inneren Hälfte ist das Chromatin fast verschwunden. Der Kern hat auf seiner inneren Seite die Abgrenzung von dem umgebenden Plasma verloren, so daß er unmerklich in letzteres übergeht (Fig. 9).

Neben diesen stark färbbaren Kernen sieht man auch andere, die sehr schwach gefärbt sind und ein bläschenförmiges Aussehen aufweisen. Sie enthalten gewöhnlich ein, manchmal auch mehrere stark färbbare Körnchen. Diese Kerne sind von dem umgebenden Plasma deutlich umgrenzt. Nun begegnet man aber auch solchen Kernen, die in ihrer Struktur eine sehr weitgehende Veränderung erfahren haben; da ihre scharfe Umgrenzung sich ebenfalls verwischt hat, kann man sie nicht mehr von ihrer Umgebung unterscheiden. Ihre Stelle verrät sich nur mehr durch die stark färbbaren Körperchen (Nucleolen), die zuvor im Kern zu sehen waren.

Ich bin zur Überzeugung gekommen, daß die stark färbbaren

Kerne in die bläschenförmigen schwach färbbaren übergehen, indem das chromatische Gerüst verschwindet und die Kernstruktur mehr granuliert wird. An einzelnen Stellen bleibt für gewönlich nur ein, manchmal auch mehrere Chromatinkörperchen übrig, die sich durch ihr Färbungsvermögen auszeichnen.

Die stark färbbaren Kerne weisen die stärkste Anhäufung des Chromatins gewöhnlich in ihrer Mitte auf. Die Kernumwandlung beginnt an der Peripherie und schreitet zu seiner Mitte vor. Wenn dieser Prozeß weit vorgeschritten ist, bleibt in der Kernmitte meistens ein größerer Körper übrig, der als Caryosom angesehen werden kann. Dieses Caryosom zerfällt jedoch bald in kleinere Stücke, von denen jedoch eins stärker färbbar als die übrigen ist (Fig. 10). Nicht selten kann man an dem einheitlichen Caryosom eine innere, sich stark färbende, und eine äußere, etwas hellere Partie unterscheiden (Fig. 9). Manchmal tritt aus dem Innern des Nucleolus ein kleines stärker färbbares Körperchen heraus, wodurch zwei Körper im Kerninnern zu sehen sind, die sich durch ihr verschiedenes Färbungsvermögen voneinander unterscheiden. In vielen Fällen weist der blassere Körper eine unregelmäßige Gestalt auf (Fig. 11—13). Es erfolgt oft eine Abspaltung des äußeren von dem inneren Teil des Caryosoms. Diese Spaltungsteile rücken voneinander ab (Fig. 10). Da in den meisten Fällen die hellere Partie einseitig aufgelöst wird, tritt sie uns als ein Sichelkörper entgegen, der den runden Nucleolus (Caryosom) umgreift (Fig. 11, 12). Nicht selten zerfällt die zentrale, stark färbbare Partie des Nucleolus in zwei oder mehrere Stücke, die jedoch bald aus der helleren Partie heraustreten. Die hellere Partie des Caryosoms bleibt noch lange bestehen, manchmal löst sie sich jedoch bald vollkommen auf.

Oft begegnet man Kernen, in denen mehrere kleinere stark färbbare Nucleolen zu sehen sind, die unregelmäßig darin verteilt sind. Manche von ihnen sind dicht an die Kernperipherie angeschmiegt (Fig. 13, 14). Es war mir leider nicht möglich, ihre Entstehungsweise mit Sicherheit festzustellen. Entweder werden sie durch den Zerfall eines größeren Körpers zustande gekommen sein, oder es hat sich zu ihrer Bildung das Chromatin der Kerne an einzelnen Stellen stärker verdichtet. In den meisten Fällen habe ich den Eindruck bekommen, daß letztere Möglichkeit am meisten Wahrscheinlichkeit für sich hat.

Die Veränderung der Struktur der Kerne ist mehr als eine Folge des Verschwindens ihres Chromatins anzusehen. In Kernen, die außerhalb der Schlauchhülle liegen, ist das Chromatin meistens

in Form eines starken Gerüstes verteilt. Während der Kernwanderung zum Schlauchinnern verschwindet allmählich das Chromatin. Die einzelnen Balken des chromatischen Gerüstes verlieren ihr Färbungsvermögen und die Kerne werden allmählich blau. In den meisten Fällen weisen die Kerne auch eine maschige Struktur auf (Fig. 10—15). Die Maschen sind jedoch schwach gefärbt. Oft sind in ihnen stärker färbbare Körnchen suspendiert, deren Größe in Zusammenhang mit dem Umwandlungsgrad der Kerne steht. Manchmal erfolgt auch eine gleichmäßigere Verteilung des zerfallenden Chromatingerüstes durch den ganzen Kern, wodurch letzterer eine gleichmäßige diffuse Färbung bekommt, als ob er verschleimt wäre (Fig. 15, 16).

Auf Fig. 9 sieht man mehrere Kerne, deren Struktur verschiedene Übergänge zwischen einem typischen Kern und einem sogenannten Pansporoblasten aufweisen. Neben dem typischen Kern ist rechts von ihm ein anderer Kern zu sehen, der in seiner Struktur eine weitgehende Veränderung erfahren hat. Immerhin kann man über seine Natur nicht im geringsten im Zweifel sein. Um die innersten Kerne hat sich bereits der früher erwähnte Hohlraum gebildet. In der Mitte der Zeichnung ist ein anderer Kern zu sehen, der in Hinsicht auf seine Struktur eine mittlere Stellung einnimmt.

In Fig. 17 sind zwei Kerne zu sehen, von denen der eine gleichmäßig gefärbt ist. Er weist außerdem mehrere Nucleolen in seinem Innern auf. Der andere benachbarte Kern ist heller gefärbt. Nur an einzelnen Stellen hat sich die dunklere Färbung in ihm in Form von Flecken und Streifen erhalten. In ihm sind ebenfalls einige Nucleolen eingeschlossen. Obwohl er in seiner Struktur eine so weitgehende Veränderung erfahren hat, daß man seine Kernnatur nicht mehr erkennen kann, finde ich eine weitgehende Ähnlichkeit mit dem anderen Kern, um ihn von einem solchen Kern ableiten zu dürfen.

Auf derselben Figur sind noch einige Kammern zu sehen, die sich durch ihre eigentümliche Struktur auszeichnen. Die größte Kammer weist eine gleichmäßig feinwabige Struktur auf. An einigen Stellen ist eine stärkere Verdichtung des Plasmas zu sehen; einzelne dieser Verdichtungen sind scharf von ihrer Umgebung umgrenzt, andere hingegen gehen unmerklich in das helle Plasma über. In diesen stark gefärbten Plasmapartien sind kleine stark gefärbte Körnchen verteilt, die offenbar durch den Zerfall von Nucleolen zustande gekommen sind. Ich betrachte diese Plasmaverdichtungen als Sichelanlagen. Nur in Hinsicht auf ihre Entstehung konnte ich mir keine genügende Klarheit verschaffen. Meiner Meinung nach

ist die Kammer durch das Hinzutreten mehrerer Kerne zustande gekommen. Einige von letzteren haben eine so weitgehende Veränderung erfahren, daß ihr Plasma ganz farblos geworden ist und die Grundstruktur der Kammer geliefert hat. Das Chromatin der übrigen Kerne hat hingegen nur eine diffuse Verteilung erfahren. Ihre Nucleolen sind in eine größere Anzahl kleinerer Körnchen zerfallen. Außerdem hat sich ihr Plasma ebenfalls in kleinere Partien geteilt. Nun sind diese stärker färbbaren Plasmapartien in einer innigeren Verbindung mit dem helleren Plasma getreten und rufen den Eindruck hervor, als ob sie sich aus letzterem herausdifferenziert haben. Ein wenig nach unten ist eine zweite Kammer zu sehen, die eine fein granulierte bis feinwabige Struktur aufweist; das Plasma läßt sich gleichmäßig färben. Nur an einigen Stellen in ihm sind stärker färbbare Fleckchen zu sehen, die die Überreste der Nucleolen darstellen dürften. Diese und die vorhergehende Figur sind sehr instruktiv, weil man aus ihnen sehr gut ersehen kann, wie die Muskelkerne unmerklich ihre Struktur verändern und in Körper zerfallen, die unverkennbar den Ursprung der Sarkosporidiensichel geben. Gleichzeitig ist aus dem ganzen Bilde der Fig. 17 deutlich der pathologische Charakter des ganzen Prozesses zu erkennen.

In Fig. 18 sind in einer Kammer mehrere dicht aneinander gepreßte Kerne gezeichnet, von denen der eine, der auch der größte ist, teilweise noch in der Schlauchhülle liegt. In letzterer dürfte noch ein zweiter Kern liegen, der aber in seiner Struktur eine so weitgehende Veränderung erfahren hat, daß er nur an seinem Nucleolus erkannt werden kann. Erst durch diesen Nucleolus aufmerksam gemacht, kann man bei einer genaueren Beobachtung den übrigen Kernleib erkennen. Alle diese Kerne weisen eine weitgehende Ähnlichkeit mit den inneren Kernen (Pansporoblasten) auf, und man wird sie eher für solche halten als für Kerne.

Es wurde nur ein Teil der großen Kammer gezeichnet, da die übrigen „Pansporoblasten“ von derselben Struktur sind wie die gezeichneten. Es unterliegt keinem Zweifel, daß diese Kammer durch die Zuwanderung einer größeren Anzahl von Kernen zustande gekommen ist. Immerhin sind aber die einzelnen „Pansporoblasten“ durch Teilung solcher Kerne entstanden. Über die Struktur der letzteren werden wir erst in einem späteren Kapitel ausführlicher zu sprechen haben. Hier wollen wir nur noch erwähnen, daß in einer anderen Kammer, die ebenfalls in Berührung mit der Schlauchhülle steht, die Ausbildung der Sicheln bereits stattgefunden hat.

Hervorheben möchten wir nur noch, daß die Schlauchhülle hier nur aus einer Schicht besteht, welche eine weitmaschige Struktur aufweist. In ihren Maschen sind an einzelnen Stellen in einer größeren Menge stärker färbbare Körnchen suspendiert.

Die vorhin beschriebenen Kerne sind meistens stark abgeplattet und liegen parallel zu der Oberfläche der Schlauchhülle. Es ist nun leicht begreiflich, daß nur auf parallelen Anschnitten diese Kerne von ihrer flachen Seite gesehen werden können. Auf Schnitten, die durch die Mitte des Schlauches gehen, erscheinen sie, da sie darauf senkrecht getroffen werden, als schmale, längliche Streifen. Es ist nun leicht begreiflich, daß diese Kerne auf solchen Schnitten gänzlich übersehen werden. Nur in Fällen, wo das Caryosom (der Nucleolus) ebenfalls auf dem Schnitte geraten ist, kann man durch eine sorgfältigere Beobachtung nicht selten auch den ganzen Kern erkennen.

Auf Schnitten, die ungefähr durch die Mitte eines Sarkosporidienschlauches gehen, ist am schwersten eben der Übergang zwischen den sogenannten Pansporoblasten und den Kernen, die in der Schlauchhülle selbst liegen, festzustellen. Man sieht fast immer auf der einen Seite Kerne, auf der anderen „Pansporoblasten“; zwischen ihnen ist eine ziemlich scharfe Grenze zu konstatieren, die uns in der inneren Oberfläche der Schlauchhülle gegeben ist. Obwohl man manchmal verschiedene Übergangsstadien zu Gesicht bekommt, ist man in Anbetracht der fast überall zu konstatierenden scharfen Grenze geneigt, keinen großen Wert darauf zu legen. Dies kommt aber unserer Meinung nach daher, daß die ausschlaggebenden Übergangsstadien, die sich in der inneren Hälfte der Schlauchhülle befinden, auf solchen Schnitten durchwegs nicht nachzuweisen sind. Es kommen jedoch auch solche Kerne in der Schlauchhülle vor, die bei ihrer Wanderung zum Schlauchinnern keine nennenswerte Abplattung erfahren; sie bewahren ungefähr ihre gewöhnliche Gestalt. Auf Schnitten, die durch die Mitte eines Schlauches gehen, kann man eben an solchen Kernen die nötigen Übergänge feststellen. Im folgenden wollen wir daher eine Reihe solcher Schnitte genauer beschreiben.

Manchmal wandeln sich auch solche Kerne in Sicheln um, die noch ihre wenigstens einigermaßen normale Struktur aufweisen. In einem solchen Falle nehmen sie eine längliche Gestalt an. Gleichzeitig bekommen sie auch eine reticuläre Struktur (Fig. 19). In solchen Fällen ist freilich der erforderliche Übergang nicht leicht zu verkennen. Auf derselben Figur ist noch ein rundlicher Körper zu sehen, der fast ganz innerhalb der Schlauchhülle liegt, der aber

noch deutlich genug seine Kernnatur erkennen läßt. Wiederum auf derselben Figur unten ist ein anderer in Zweiteilung begriffener Kern zu sehen, der, obwohl er seine Kernnatur noch nicht verloren hat, deutliche Anklänge an die sogenannten Pansporoblasten (Sporoblasten) erkennen läßt. Auch innerhalb der Schlauchhülle sind einige „Pansporoblasten" zu sehen, die in bezug auf ihre Struktur und Gestalt eine weitgehende Ähnlichkeit mit den Muskelkernen erkennen lassen. Dieses Bild ist daher sehr instruktiv.

In Fig. 20 ist ebenfalls an der inneren Grenze der Schlauchhülle ein Kern zu sehen, dessen Struktur ziemlich an diejenigen Kerne (Pansporoblasten) erinnert, welche innerhalb erwähnter Hülle liegen. In diesem Kerne ist der Nucleolus in Zweiteilung begriffen. In den inneren Kernen sieht man zwischen ihrem lockeren blassen Gerüst gewöhnlich an zwei Stellen eine stärkere chromatische Ansammlung, welche durch den Zerfall des geteilten Nucleolus zustande gekommen sein dürfte. Weder in der Struktur noch in der Größe ist ein nennenswerter Unterschied zwischen diesem Kern und den „Pansporoblasten" vorhandon.

Fig. 19, 20 stellen Sarkosporidienschläuche, die vom Hammel stammen, dar. Die folgenden Bilder beziehen sich auf Büffelsarkosporidien.

Fig. 4 stellt einen mit MAYER's Hämalaun gefärbten Schnitt dar, der einem mittelgroßen Schlauche entnommen wurde. Die noch runden Kerne („Pansporoblasten"), die sich innerhalb der Schlauchhülle befinden, weisen eine bläschenförmige Gestalt auf. In ihrem Innern ist ein ziemlich grobmaschiges Netzwerk zu sehen, in welchem sich rötlich färbende, stark glänzende Körnchen versprengt sind. In der Mitte der Kerne oder etwas mehr seitlich ist ein größerer stark färbbarer Körper vorhanden, der nicht selten eine deutliche granuläre Struktur aufweist.

In der Schlauchhülle sieht man außerdem noch drei Kerne, die annähernd dieselbe Größe aufweisen wie diejenigen, die innerhalb des Schlauches liegen. In ihrer Struktur stimmen sie ebenfalls ziemlich mit den zuerst besprochenen Kernen überein. Im Innern dieser Kerne ist ebenfalls ein großer Nucleolus vorhanden. Von den übrigen zeichnen sich diese Kerne nur durch ihre stärkere Färbbarkeit aus. Das chromatische Gerüst ist hier ebenfalls stark entwickelt. Die Kernoberfläche ist scharf markiert. Dies wird offenbar durch eine stärkere Einlagerung von Chromatin in derselben hervorgerufen. Um die einzelnen Kerne ist bereits ein ganz schmaler heller Hof aufgetreten, wodurch ihre Tendenz, sich in

„Pansporoblaste“ umzuwandeln, noch deutlicher zutage tritt. Ihre Struktur sowie die Verteilung des Chromatins in ihnen läßt andererseits keinen Zweifel über ihre Kernnatur aufkommen. Der mittlere Kern in der Schlauchhülle weist zwar dieselbe Struktur auf wie die übrigen zwei. In seinem Innern ist jedoch noch kein Nucleolus ausgebildet. Etwas weiter nach außen sind drei andere Kerne zu sehen, welche ein dichteres Gerüstwerk aufweisen. In den Knoten des Gerüstwerkes sind kleinere Chromatinkörnchen suspendiert.

Die Schlauchhülle ist ziemlich stark entwickelt; nach innen und nach außen ist sie von ihrer Umgebung nicht deutlich abgegrenzt. Nach innen löst sie sich in die Scheidewände auf, die die Kammern zustande bringen. Nach außen hin geht sie unmerklich in das umgebende Binde- und Muskelgewebe über. Die Struktur der Schlauchhülle erinnert lebhaft an die Cohnheim'sche Felderung der Muskelbündel, was uns zur Annahme veranlaßt, daß wir es hier mit Querschnitten von in Zerfall begriffenen Muskelfasern zu tun haben.

Fig. 3 ist einem Präparat entnommen, welches eine ähnliche Behandlung erfahren hat wie der vorhergehende Schlauch, nur ist er aber bedeutend älter. Die im Innern des Schlauches eingewanderten Kerne weisen ebenfalls eine bläschenförmige Gestalt auf. Nur einige von ihnen zeigen jedoch ein deutliches Gerüstwerk. In jedem Kern ist ein größerer Nucleolus vorhanden. Die meisten Kerne haben eine Teilung erfahren, die sich durch das Auftreten einer deutlichen Scheidewand in ihrem Innern kundgibt. Es ist selten der Fall, daß die Kerne vereinzelt in der Substanz der Schlauchhülle eingebettet sind. Meistens sieht man einige Kerne, die zu Nestern versammelt sind. Offenbar sind sie durch die Teilung eines einzigen Kernes zustande gekommen. Eine scharfe Grenze zwischen der äußeren und der inneren Schicht der Schlauchhülle existiert auch hier nicht. Sie wird nur durch die verschiedene Struktur der beiden Schichten hervorgerufen. Die innere Schicht ist fein granuliert, die äußere hingegen ist grob gestrichelt. Die Strichelung dürfte dadurch zustande kommen, daß der Schnitt die in Auflösung begriffenen Muskelbündel schief trifft.

In der äußeren Schicht der Schlauchhülle ist eine Anzahl von Kernen zu sehen, die etwa von derselben Größe sind wie diejenigen, die in der inneren Schicht und innerhalb der Schlauchhülle gelegen sind. In jedem Kern ist eine, in manchen wieder zwei Nucleolen zu sehen. Im Kerninnern kommt außerdem in einer größeren Menge Chromatin vor, welches entweder in Form von Körnchen oder in Form von Fäden in ihm verteilt ist. An der Kernperipherie ist

das Chromatin ebenfalls stärker angesammelt, wodurch eine deutliche Kernmembran hervorgerufen wird. Diese Kerne lassen sich gewöhnlich bedeutend stärker färben als diejenigen, die innerhalb der Schlauchhülle liegen. Manche von diesen Kernen sind in Teilung begriffen, was man an ihrer Einschnürung oder an der Scheidewand, die bereits in ihrem Innern aufgetreten ist, ersehen kann.

Fig. 5 stellt einen kleinen Teil eines Schnittes dar, der einem ähnlichen Schlauch entnommen wurde. Innerhalb der Schlauchhülle sind mehrere Kerne gezeichnet, die sich nicht besonders von den in den zwei vorhergehenden Figuren zur Darstellung gebrachten Kernen unterscheiden. Die Schlauchhülle weist eine netzförmige Struktur auf, die durch eine große Menge gestreifter Stäbchen, die sich ineinander verflechten, hervorgerufen wird. Diese Stäbchen stellen ebenfalls Querschnitte von in Auflösung begriffenen Muskelfibrillen dar. Außerhalb dieser Hülle sieht man eine verhältnismäßig breite Zone, in welcher in einer beträchtlichen Menge bläschenförmige Kerne verteilt sind, die sich in ihrer Struktur wenig von denjenigen unterscheiden, die sich innerhalb der Schlauchhülle befinden. Nach außen hin, d. h. dem Gewebe zu, hat sich eine neue Schicht differenziert, die bedeutend dünner ist als die innere. Diese letztere dürfte bald zur Auflösung gebracht werden, so daß die äußere Kernreihe ganz ins Innere des Schlauches zu liegen kommen wird. Ich habe öfters ähnliche Bilder gesehen, wo zwei Hüllen, die ziemlich weit voneinander liegen, zu konstatieren waren. Manchmal stellt die innere Schicht eine Abspaltung der äußeren dar, die sich keilförmig in das Schlauchinnere hineinschiebt. Ich habe die innere Schlauchschicht in verschiedenen Auflösungszuständen gesehen.

Von diesen Kernen lassen sich nun Übergänge zu den Kernen feststellen, die um die Muskeln herumliegen. Letztere weisen meistens ein lockeres Chromatingerüst auf. Ein Nucleolus ist in ihrem Innern gewöhnlich selten zu sehen. Die Schlauchhülle ist nach außen nicht deutlich abgegrenzt; sie geht, wie die Figur zeigt, unmerklich in das umgebende Binde- und Muskelgewebe über.

Fig. 21 wurde einem Schlauch entnommen, der nach FLEMMING fixiert und mit HEIDENHAIN's Hämatoxylin gefärbt wurde. Die Schlauchhülle besteht aus zwei deutlich voneinander abgegrenzten Schichten. Die dritte Schicht, die streng genommen ebenfalls zu der Schlauchhülle gehört und von welcher die Kammerwände abgehen und in der die sogenannten „Pansporoblasten“ eingebettet sind, ist nach außen ebenfalls von der übrigen Schlauchhülle abgegrenzt. Die drei Schichten unterscheiden sich durch ihre Struktur

voneinander. Die äußere Schicht ist grob granuliert und läßt sich verhältnismäßig stark färben, die mittlere Schicht ist etwas feiner granuliert und schwächer färbbar; in der inneren Schicht ist keine Granulierung zu konstatieren, sie nimmt die Farbe gleichmäßig und etwas stärker als die mittlere Schicht an.

In jeder Schicht der Hülle sind Kerne eingebettet, die zwar für jede Schicht eine besondere Struktur aufweisen, genauer besehen bekunden sie aber eine so weitgehende Ähnlichkeit, daß man darüber nicht im Zweifel sein kann, daß sie eines ähnlichen Ursprungs sind. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die beiden in der äußersten Schicht eingebetteten Gebilde Gewebskerne darstellen, die bereits eine merkliche Veränderung in ihrer Struktur erfahren haben. Diese Strukturveränderung ist in dem einen Kern weiter vorgeschritten als in dem anderen. Hier ist das Chromatin in feinen Staub zerfallen, wodurch der Kern eine diffuse Färbung bekommen hat. In seinem Innern ist außerdem ein sich ebenfalls diffus färbender Körper zu sehen, der wohl den Nucleolus darstellen dürfte. In dieser Schicht ist noch ein Haufen von mehreren ovalen Körpern zu sehen, der wohl durch den Zerfall eines Kernes entstanden sein dürfte. Die meisten der ovalen Körper sind strukturlos. Nur zwei von ihnen weisen ein deutliches chromatisches Gerüst auf. Die Kerne heben sich, infolge ihrer intensiven Färbbarkeit, sehr scharf von ihrer Umgebung hervor. In der mittleren Schicht sind bei genauerem Zusehen einige Gebilde festzustellen, die etwa von derselben Färbbarkeit sind wie ihre nächste Umgebung. Diese Gebilde haben eine bläschenförmige Gestalt. Im Innern des einen Gebildes ist ein dunklerer Fleck zu sehen, von dem aus gegen seine Peripherie feine Auswüchse ausstrahlen. Das andere Gebilde hat ungefähr dieselbe Struktur und Gestalt. Annähernd in der Mitte dieser Schicht ist eine etwas hellere rundliche Stelle zu sehen, die eine deutlich reticuläre Struktur aufweist und wahrscheinlich einem Kern ihre Entstehung zu verdanken hat.

Nun sollen die in der inneren Schicht eingeschlossenen Gebilde, die sogenannten „Pansporoblasten", besprochen werden. Sie sind bläschenförmig und verhältnismäßig sehr schwach gefärbt, wodurch sie sich scharf von ihrer Umgebung hervorheben. Ohne Voreingenommenheit müssen wir beim ersten Blick zu der Schlußfolgerung kommen daß wir es in diesen Gebilden mit Gewebskernen zu tun haben; von einem ähnlichen Typus, den wir z. B. bei Knorpelzellen zu sehen gewöhnt sind. Von einer genaueren Beschreibung der Struktur dieser Kerne will ich Abstand nehmen, da man sich aus

der Figur selbst am besten eine Vorstellung darüber machen kann. Einige von diesen Kernen haben bereits eine einmalige oder eine wiederholte Teilung erfahren.

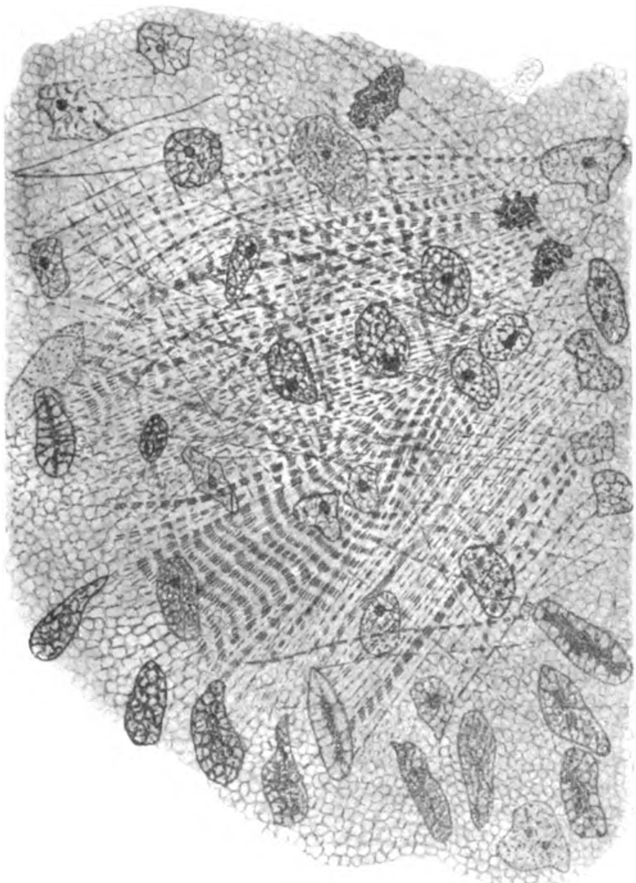
Hier will ich noch auf die große Ähnlichkeit aufmerksam machen, die zwischen dem oberen Kern in der mittleren Schicht und den sogenannten Pansporoblasten in der inneren Schicht existiert. Wenn wir für einen Augenblick zulassen würden, daß wir in den „Pansporoblasten“ mit parasitischen Protozoen zu tun haben, so müssen wir auch für das soeben erwähnte Gebilde in der mittleren Schicht ebenfalls dieselbe Annahme machen. Dann müßten wir aber weiter annehmen, daß dieses Gebilde aus der inneren Schicht ausgewandert ist. Weder die Gestalt dieses Gebildes noch die übrigen Verhältnisse geben uns aber einen Grund zu dieser Annahme. Nach dem ganzen Bilde sehen wir uns zu der Annahme veranlaßt, daß die innersten Gebilde durch eine Umwandlung der in der äußeren Schicht eingeschlossenen Gebilde (Kerne) zustande kommen.

Fig. 22 ist ebenfalls demselben Schlauch, jedoch von einer anderen Stelle, entnommen. Die Schlauchhülle stellt eine einheitliche breite Schicht dar, die grob gekörnelt ist. In ihr ist eine Muskelfibrille noch deutlich erhalten zu sehen. Ich erwähne diese Figur an dieser Stelle deswegen noch einmal, weil man keinen Augenblick anstehen wird, die „Pansporoblasten“ ihrer Struktur und ihrem Aussehen nach für Gewebskerne zu erklären. Ich wüßte auch nicht, welche Momente da maßgebend sein könnten, um diese Gebilde für parasitische Protozoen zu erklären. Man darf außerdem nicht außer acht lassen, daß wir es hier auch mit stark veränderten Gewebskernen zu tun haben.

Textfig. B stellt einen Schnitt dar, der unmittelbar über die Oberfläche eines Schlauches geht. Der nächste Schnitt trifft bereits die Schlauchhülle. Die Mitte dieses Schnittes steht in Berührung mit dem Sarkosporidienschlauch. Von der Anordnung der zwischen den Muskelfibrillen verteilten Kerne erschließt man, daß sie in einer Wanderung zum Zentrum begriffen sind. Diese Kerne weisen eine verschiedene Form und Struktur auf. Die an der Peripherie der Zeichnung liegenden sind meistens länglich mit einem starken chromatischen Gerüst. Je näher dem Zentrum zu werden sie immer mehr oval bis rund. Manche von ihnen sind auch amöboid. Ihr chromatisches Gerüst wird feiner; in ihrem Inneren tritt hingegen ein Nucleolus auf.

Die Umwandlung der Kerne erfolgt manchmal schneller, manchmal langsamer. Daher begegnet man oft Kernen, die bereits un-

mittelbar unter der Oberfläche der Schlauchhülle die Struktur ihrer Umgebung angenommen haben. Andere Kerne sind hingegen noch an der inneren Wand der Schlauchhülle vollkommen intakt. So bald der Kern eine so weitgehende Veränderung in seiner Struktur erfahren hat, daß er von dem umgebenden Plasma nicht mehr leicht unterschieden werden kann, zerfällt er in eine Anzahl von Stücken,



Textfig. B.

in die sogenannten „Pansporoblasten", die nachher zu den Sicheln werden. In manchen Fällen erfolgt der Kernzerfall unmittelbar unter der Oberfläche der Schlauchhülle, wobei die zerfallenden Körper gleich von Anfang an eine sichelförmige Gestalt annehmen. Dadurch entsteht nicht selten ein Haufen von typischen Sicheln, die von dem übrigen Inhalt des Schlauches vollkommen isoliert sind.

Sobald die Kerne anfangen in kleinere Stücke zu zerfallen, bekommen sie wiederum eine deutlichere Kontur, sie beginnen sich von neuem von dem umgebenden Plasma abzuheben. Zwischen Ihnen und dem letzteren bildet sich ein zuerst ganz schmaler Hohlraum aus, so daß der Kern in einer Kammer zu liegen scheint. Die Bildung des Hohlraumes beginnt zuerst an einer Stelle, die innerhalb des Kernes liegt, so daß letzterer mit seiner äußeren Seite zuerst noch immer in einer innigen Berührung mit dem Plasma der Schlauchhülle steht. Später wird er aber allseitig von einem leeren Raum umschlossen. Auf diese Weise kommen eben die bekannten Kammern des Sarkosporidienschlauches zustande. Sie stellen Nester von umgewandelten Muskelkernen dar. In einer Kammer sind für gewöhnlich mehrere Kerne eingeschlossen, welche zuvor in einer engeren Berührung miteinander gewesen sein dürften. Der Inhalt mancher Kammer stammt auch von einem einzigen Kern ab, solche Kammern sind gewöhnlich klein. Wenn in der Kammer mehrere Kerne eingeschlossen sind, so treten sie uns auf zur Schlauchhülle senkrechten Schnitten, als jene charakteristischen Massen innerhalb der letzteren entgegen, die als Pansporoblasten bezeichnet werden.

Auf Grund der verschiedenen Übergänge, die sich von den innerhalb des Schlauches gelegenen blassen, bläschenförmigen Gebilden bis zu den echten Gewebskernen, die sich außerhalb des Schlauches befinden, feststellen lassen, komme ich zur Überzeugung, daß ein Teil der Gewerbskerne aus uns unbekannten Gründen zum Schlauchinnern wandern. Während dieser Wanderung erfahren sie eine Strukturveränderung, die in einem Verschwinden des größten Teils des Chromatins besteht. Diese Veränderung scheint ganz plötzlich an der inneren Grenze der Schlauchhülle stattzufinden, weil man außerhalb derselben meistens deutlich färbbare Kerne zu sehen bekommt, über deren Natur man in den meisten Fällen nicht im geringsten in Zweifel sein kann. Andererseits sieht man innerhalb dieser Grenze meistens dicht aneinander gepreßte Gebilde, die sich durch ihre äußerst schwache Färbbarkeit auszeichnen. Nur selten kann man Übergangsstadien sehen, die die beiden Stadien überbrücken.

Diese Umwandlung der Kerne ist eben allen Forschern entgangen, die sich mit der Natur der Sarkosporidien befaßt haben. Zwar haben sie die in der Schlauchhülle zerstreuten Kerne gesehen: die meisten von ihnen haben sich jedoch keine Rechenschaft über ihre Bedeutung gegeben. Ein anderer Teil der Forscher, der diese Kerne beobachtet und eine Ähnlichkeit mancher von ihnen mit den

in dem Schlauch selbst gelegenen Sporoblasten konstatiert hat, glaubt, daß sie auf mechanischem Wege aus dem Schlauchinnern hierher gebracht worden sind. ALEXEIFF, der unsere Ansicht über die Natur der Schlauchhülle teilt, obwohl er zweifelsohne viele solche Kerne in derselben beobachtet haben wird, spricht immer nur von einem Kern, der Wirtszelle. Er nimmt offenbar an, daß das Sarkosporidium ein Zellparasit und die Schlauchhülle eben der Überrest der Wirtszelle ist.

Nachdem wir die Entstehungsweise der sogenannten Pansporoblasten verfolgt haben, müssen wir ihre Umwandlung in Sicheln beschreiben.

b) Umwandlung der Pansporoblasten in Sicheln.

Dieser Prozeß ist am besten an Schläuchen zu verfolgen, die von Büffeln herstammen. Die nach innen wandernden Kerne haben eine reticuläre Struktur. In ihnen sind ein oder zwei, manchmal sogar drei Nucleolen zu sehen, die von ihrer Oberfläche feinere Auswüchse strahlenförmig aussenden. Noch in der Schlauchhülle können diese Kerne eine Teilung in zwei oder drei Stück durch eine einfache Durchschnürung erfahren (Fig. 6). Während der Wanderung des Kernes nach innen erfährt sein Nucleolus eine partielle Auflösung, indem ein Teil von ihm in kleine Körnchen zerfällt. Dadurch entsteht in unmittelbarer Berührung mit ihm ein sich dunkler färbender Fleck, der nicht selten von zwei längeren Auswüchsen des restlichen Nucleolus umgriffen wird. Der dunklere Fleck ist gewöhnlich sphärisch. Einseitig liegt diese Sphäre dem Nucleolus an. Nicht selten liegt letzterer innerhalb derselben (Fig. 2, 6, 18, 21). In vielen Fällen sieht man einen zweiten Nucleolus, der aber viel kleiner ist. Dieser befindet sich auf der gegenüberliegenden Seite der Sphäre, ihr ebenfalls anliegend. Er dürfte durch eine Abschnürung von dem größeren Nucleolus entstanden sein. In Kernen, die mehr zentralwärts im Schlauch liegen, ist die Sphäre größer geworden. Außerdem ist sie von ihrer Umgebung deutlich umgrenzt.

Wenn man die sich dunkel färbende Sphäre mit den ihr anliegenden Nucleolen betrachtet, so kann man in der Tat auf den Gedanken kommen, daß wir hier mit einem Zellkern zu tun haben. Nichts ist daher näherliegend, als die irrtümliche Annahme zu machen, daß die aneinandergepreßten wirklichen Kerne (Pansporoblasten) in der Tat ganze Zellen darstellen, deren Kerne die soeben beschriebenen Gebilde sind. Zumal sie aber jetzt in den meisten

Fällen eine wabige Struktur angenommen haben. Erst durch sorgfältige Beobachtungen und durch die Aufdeckung der nötigen Übergangsstadien habe ich die wirkliche Kernnatur dieser Gebilde feststellen können. Diese Kerne erfahren auch innerhalb der Schlauchhülle eine Vermehrung durch eine einfache Durchschnürung. In den meisten Fällen ist aber die Teilung sehr schwer festzustellen, weil die Kerne dicht aneinandergepreßt sind. Außerdem bleibt die oberflächliche Durchschnürung gewöhnlich aus. Die Teilung selbst wird nur durch das Auftreten einer deutlichen Wand in dem Kerninnern markiert.

Die meisten dieser polygonalen Kerne wandeln sich nun direkt in Sichelkeime um. Der Umwandlungsprozeß geht aber offenbar sehr schnell vor sich. Es ist daher äußerst schwierig, die nötigen Übergangsstadien festzustellen. Man sieht gewöhnlich polygonale Kerne — die sogenannten Pansporoblasten — und in unmittelbarer Berührung mit ihnen Sicheln, die bereits ihre definitive Gestalt und Struktur angenommen haben. Nach einem sorgfältigen Studium gelang es mir jedoch immmerhin manche Details von den Veränderungen, die sich an der Struktur dieser Gebilde abspielen, festzustellen. Ich muß jedoch gleich hervorheben, daß dieser Prozeß nicht allein bei Sicheln aus verschiedenen Schläuchen, sondern sogar bei aus einem und demselben Schlauch stammenden Sicheln weiten Variationen unterworfen ist.

Die Hauptveränderungen spielen sich vornehmlich an der oben beschriebenen Sphäre mit den ihr anliegenden Nucleolen ab. Zuerst erfährt sie eine Verlängerung, die möglicherweise durch das Auseinanderrücken der Nucleolen hervorgerufen wird (Fig. 2, 23, 24), so daß sie jetzt oval stark ausgezogen bis kegelförmig wird. An der Spitze der Kegel befindet sich der kleinere Nucleolus, an deren Basis ist hingegen der große Nucleolus zu sehen. In einem nächsten Stadium sieht man an der Stelle des großen Nucleolus einen Haufen von vielen kleinen Körnchen, die sich bald zerstreuen und in der einen Hälfte der Sichel gleichmäßig verteilen. Offenbar erfolgt der Zerfall des Nucleolus in Körnchen plötzlich (Fig. 25, 26). Was die Sphäre selbst anbelangt, so sind bezüglich ihrer weiteren Umwandlung mehrere Möglichkeiten festzustellen. Sie wächst stark heran, wobei sie eine wabige Struktur annimmt; gleichzeitig hiermit treten in ihr viele sich mehr eosinophil, nicht selten jedoch auch chromatisch färbende Körnchen auf, so daß sie in der Tat einen Kern vortäuschen kann. Da der kleinere Nucleolus in vielen Fällen innerhalb derselben bleiben kann und er sich außerdem von den übrigen Körnchen

dadurch unterscheidet, daß er etwas größer ist, so ist die Annahme der verschiedenen Autoren, die ihn für den Nucleolus des Kernes der Sarkosporidiensichel ansehen, begreiflich (Fig. 26).

Nicht selten erfährt die Sphäre eine so starke Vergrößerung, daß sie die eine Hälfte der Sichel erfüllt (Fig. 25, 28). Nur an der Spitze der letzteren ist ein Rest vom übrigen stärker färbbaren Plasma noch zu sehen. In den meisten Fällen ist auch ein stärker tingiertes Körnchen zu sehen, welches mit einem der beiden kleineren Nucleolen zu identifizieren ist. Der andere kleinere Nucleolus ist innerhalb der stark aufgeblähten Sphäre geblieben (Fig. 26). In anderen Fällen vermischt sich die stark aufgeblähte Sphäre mit dem übrigen Inhalt der Sichel, wodurch diese Hälfte der Sichel eine maschige Struktur annimmt (Fig. 25). In ihr sind gewöhnlich ein, nicht selten zwei Körnchen zu sehen, die wohl die beiden kleinen Nucleolen darstellen. Diese Sichelhälfte weist eine größere Neigung zu dem Eosin auf und sie färbt sich für gewöhnlich etwas rötlicher als die andere.

Nach dieser Darstellung sind nun die sich widersprechenden Angaben der verschiedenen Autoren über die Struktur der Sichelkörper leicht begreiflich. Wie bereits erwähnt, schreiben die meisten Forscher den Sicheln einen Kern zu, nur daß sie sich in ihrer Deutung widersprechen. Ein Teil von ihnen bezeichnet die aufgeblähte Sphäre als den Kern. Der übrige Teil sieht die durch den Zerfall des großen Nucleolus entstehenden Körnchenhaufen als den Kern an. Rh. Erdmann bezeichnet den Kern der übrigen Autoren — die aufgeblähte Sphäre — als die Polkapsel der Sarkosporidienspore. Den wirklichen Kern sieht sie in einem Körnchen, das nicht selten vereinzelt im Plasma der Sichel zu sehen ist. In vielen Fällen dürften wir es hier wohl mit dem kleineren Nucleolus zu tun haben. Manche Forscher hingegen können keinen Kern in der Sichel finden. In Fällen, wo die Sphäre eine begrenzte Aufblähung erfahren hat, kann sie in der Tat einen Kern vortäuschen. Offenbar haben die Autoren, die der Sichel einen Kern zuschreiben, vornehmlich solche Fälle berücksichtigt. Die übrigen Autoren, die dem Sichelkörper einen Kern absprechen, werden wohl solche Fälle berücksichtigt haben, bei denen die Sphäre eine äußerst starke Aufblähung erfahren und sich mit dem übrigen Inhalt der Sichel vermischt hat.

Dieselben Verhältnisse dürften wohl auch bei den Hammelsarkosporidien existieren. Auch hier sind bei der Ausbildung der Sicheln weitgehende Differenzen vorhanden. In den meisten Fällen

weisen die noch nicht ausgebildeten Sicheln eine größere Menge von runden stark färbbaren Körnchen auf, die entweder nur einen Teil des letzteren einnehmen oder in ihm überall zerstreut sind (Fig. 27 bis 29). Die Art und Weise ihrer Entstehung ist mir nicht ganz klar; in vielen Fällen habe ich den Eindruck gewonnen, daß sie aus dem übrigen fein gekörnelten Inhalt der Sicheln sich differenzieren. Nicht selten macht es jedoch den Eindruck, als ob sie durch den Zerfall eines größeren Nucleolus zustande kommen (Fig. 7, 8).

Nach RH. ERDMANN (1910) entstehen die runden (metachromatischen) Körperchen aus dem Kern durch eine ununterbrochene Abschnürung. Nach ALEXEIEFF haben die sphärischen Körper dem Caryosom ihre Entstehung zu verdanken. Nach ihm wandert letzteres aus dem Kern aus. Durch Zusammenziehung einiger Chromatinkörnchen im Kern bildet sich an seiner Stelle ein neues Caryosom. Dieser Prozeß wiederholt sich öfters. Ich glaube, daß diese Angabe ALEXEIEFF's ebenfalls zutrifft. Auch ich habe manchmal Bilder beobachtet, welche dafür sprechen, daß wenigstens ein Teil der Körper auf die soeben angegebene Weise entstehen. Der Zerfall des großen Nucleolus in runde Körperchen stellt im Grunde genommen ebenfalls dasselbe dar.

In manchen Sichelkörpern sieht man neben den vielen kleinen Körnchen einen größeren Nucleolus, der jedoch bald in feinen Staub zerfällt und die stärkere Färbbarkeit des spitzeren Endes der Sichel hervorruft. In solchen Sicheln habe ich kein Gebilde sehen können, das man als den Kern der Autoren ansehen könnte (Fig. 28, 29).

In Schläuchen, die von einem anderen Tier stammen und die mit Sublimat-Alkohol-Eisessig fixiert worden sind, tritt uns ein anderes Bild entgegen. Hier zerfallen die Nucleolen der einwandernden Kerne in Haufen von Körnchen, die in dem verblaßten Kern wie die Kerne des vermeintlichen Protozoon (Pansporoblastenstadium) aussehen. Bei der Ausbildung der Sicheln bleiben diese Körnchen an dem einen Ende der letzteren und können wirkliche Kerne vortäuschen. In anderen Schläuchen löst sich der Nucleolus des sogenannten Pansporoblastenstadiums vollkommen auf, so daß in den daraus entstehenden Sichelkeimen keine Spur mehr von ihm übrig geblieben ist.

In anderen Schläuchen begegnet man in dem Pansporoblastenstadium in den Kernen einen oder zwei stark färbbaren Nucleolen, die neben oder in der Nähe eines größeren Nucleolus liegen. Dieser letztere ist gewöhnlich schwächer färbbar als die ersteren. Bei der Umwandlung der polygonalen Kerne — Pansporoblasten — in die

Sicheln zerfallen zuerst die blaß färbbaren Nucleolen in viele kleine Körnchen, welche die sphärischen (metachromatischen) Körper darstellen. Der kleinere, stärker färbbare Nucleolus bleibt in vielen Fällen erhalten und wird unter den übrigen Körnern durch seine bedeutendere Größe ausgezeichnet. Da er in den meisten Fällen weit weg von den übrigen Körnern liegt, konnte er als ein caryosomaler Kern angesehen werden, wie dies Rh. Erdmann in der Tat auch tut. Nicht selten wird er auch aufgelöst, oder er zerfällt offenbar auch in kleinere Körnchen, da er in vielen Sicheln nicht mehr festzustellen ist. Die durch seinen Zerfall entstandene Substanz läßt sich, wie es scheint, etwas abweichender färben. Diesem abweichenden Verhalten ist wohl zu verdanken, daß dieses Körnchen von manchen Autoren als der Kern der Sichel angesehen wird.

Die vorstehende Darstellung von der Entstehung der Sicheln und der sich dabei abspielenden cytologischen Prozesse stützt sich auf Beobachtungen, die auf Schnittserien ausgeführt wurden. Auf Ausstrichpräparaten sind die vorhin beschriebenen cytologischen Erscheinungen nicht deutlich zu beobachten. Dafür kommen uns aber manche morphologische Veränderungen bei der Bildung der Sicheln zu Gesicht, die wohl von einem gewissen Interesse sein dürften, daher will ich sie hier mit kurzen Worten beschreiben.

Die Gebilde, aus denen die Sicheln entstehen, haben auf Ausstrichpräparaten eine kugelige Gestalt. Sie weisen eine feinwabige Struktur auf; in ihrem Innern sind außerdem eine Anzahl von den runden Körperchen (metachromatische Körperchen) zu sehen, die regellos darin verteilt sind. In den meisten Fällen dürften wir es in diesen runden Körpern mit den Pansporoblasten zu tun haben. Man findet nun andere Gebilde, die eine keulenförmige Gestalt aufweisen. Sie dürften wohl aus den runden durch ein einseitiges Auswachsen des Plasmas entstanden sein (Fig. 30, 31). Sehr oft erfolgt aber auch ein Auswachsen des Plasmas auf zwei gegenüberliegenden Seiten der Kugel, wobei der eine Auswuchs meist viel dicker und länger als der andere sein kann. Der kürzere Auswuchs ist gewöhnlich scharf zugespitzt und schnabelförmig gekrümmt; nicht selten macht er den Eindruck eines Papageischnabels (Fig. 32—35). Die halb ausgebildeten Sicheln haben zwar ihre typische Gestalt bereits angenommen, in ihrer Mitte ist jedoch noch eine mehr oder minder starke Ausbuchtung zu sehen, die noch den restlichen Teil der Kugel repräsentiert. Bei der Betrachtung einer solchen halb ausgebildeten Sichel kann man einen deutlichen Unterschied in der Struktur der beiden Auswüchse und des ausgebuchteten Teiles

derselben feststellen. Erstere haben eine deutlich wabige Struktur. Die Ausbuchtung weist hingegen eine fein granulierte Struktur auf, sie läßt sich außerdem auch stärker färben als die Auswüchse selbst.

Nach den verschiedenen Bildern, die ich während meiner Untersuchung zu Gesicht bekam, bin ich der Ansicht, daß das Herauswachsen der Sicheln auf der soeben beschriebenen Weise nicht die Regel ist. Sie dürfte eher nur bei einem Teil der Schläuche vorkommen. In anderen Fällen dürfte die Sichel gleich beim Zerfall der Kerne in ihrer definitiven Gestalt angelegt werden.

Bei Sporozoen ist eine Entstehung von Merozoiten auf eine ähnliche Weise nicht bekannt. Es darf allerdings nicht verschwiegen werden, daß über die Entstehungsweise der Sporozoiten in der Sporocyste bei Coccidien und Gregarinen selbst bisher nichts bekannt ist.

Über die Entstehung der Sicheln bei Sarkosporidien hat zuerst mein Freund Prof. Dr. FIEBIGER in seiner vorläufigen Mitteilung kurz berichtet, wobei er nur die äußeren morphologischen Veränderungen, die sich an der Sichel selbst bei ihrer Bildung abspielen, einer kurzen Erwähnung getan hat. Von den übrigen Forschern, die sich mit dem Studium der Sarkosporidien befaßt haben, liegen uns hierüber keine Angaben vor. Was die cytologischen Bilder anbelangt, die uns dabei begegnen und in vorstehendem ausführlich beschrieben wurden, liegen uns von keiner Seite irgendwelche Angaben vor.

Nachdem die Sicheln in ihrer definitiven Form angelegt werden, findet eine nachträgliche Vermehrung derselben durch Teilung statt. Bisher wurde dabei nur eine Längsteilung beobachtet. Sie ist sowohl auf Ausstrichen als auch auf Schnitten zu beobachten. Der Anfang der Teilung gibt sich durch eine Einkerbung auf dem einen aufgetriebenen Ende der Sichel kund. Diese Einkerbung dringt immer tiefer in die Sichel ein, bis schließlich die Teile der Zwillingsgebilde bloß mehr an dem anderen Ende zusammenhängen (Fig. 36, 36a). Bisweilen wurden auch Längsspalten im Innern der Sicheln bei zusammenhängenden Enden beobachtet, die wir als Ausdruck einer beginnenden Teilung deuten (Fig. 34, 36b). Diese Vermehrungsweise der Sichel dürfte sehr häufig vorkommen, obwohl der Vorgang selbst relativ nur selten deutlich sichtbar ist; offenbar geht er jedoch sehr rasch vor sich. Anderenfalls wäre die beträchtliche Zahl der Sicheln in den Kammern der Schläuche nicht leicht zu erklären.

Die Vermehrung der Sicheln durch Längsteilung wurde zuerst von KOCH beschrieben, später wurde sie von FIEBIGER bestätigt. TEICHMANN (1911) hat eine genaue Beschreibung dieser Vermehrungsart

gegeben, indem er die Angaben der früheren Autoren bedeutend ergänzt hat. Seiner Darstellung kann ich nichts Neues hinzufügen. Zwischen uns existiert nur eine Differenz in der Deutung der einzelnen Bestandteile der Sichel.

Die beim ersten Blick existierende Gesetzmäßigkeit bei der Entstehung der Sicheln verschwindet bei einem genaueren Studium der sich dabei abspielenden Prozesse. Obwohl bei dem Endprozeß der Entwicklung wohlausgebildete, ganz bestimmte Gebilde — die Sicheln — zustande kommen, trägt dieser Prozeß das Gepräge des Pathologischen an sich. Allein die mehrfachen Variationen, die sowohl in den verschiedenen Schläuchen eines und desselben Tieres als auch innerhalb eines und desselben Schlauches vorkommen, sprechen zugunsten dieser Annahme. Ferner ist die Struktur der Sicheln selbst so variabel und von der Struktur der Sporozoiten resp. der Schizonten der Telosporidien so abweichend, daß wir in dieser Annahme noch mehr bekräftigt werden.

Wir müssen gleich hervorheben, daß nicht überall diese Gebilde die Form von Sicheln annehmen. Oft begegnet man Schläuchen, wo sie nur eine länglich ovale Form erreichen und in diesem Zustande verbleiben, bis sie einer Auflösung anheimfallen. Den besten Beweis, daß wir in diesen Gebilden mit pathologischen Veränderungen von Gewebselementen zu tun haben, erblicken wir jedoch in dem weiteren Schicksal dieser Gebilde, das in ihrer kompletten und dabei regelmäßigen Auflösung besteht.

4. Auflösung der Sicheln.

Allen Forschern, die sich mit dem Studium der Sarkosporidien befaßt haben, ist die Erscheinung aufgefallen, daß es in der Mitte aller einigermaßen größeren Schläuche eine große Anzahl von Kammern gibt, die vollkommen leer sind. Daneben gibt es außerdem auch andere Kammern, in denen die Sicheln in einer sehr begrenzten Anzahl vorhanden sind. Diese Erscheinung wird fast von allen Forschern auf eine komplette Auflösung der Sicheln der betreffenden Kammern zurückgeführt. Da angenommen wird, daß wir es in diesen Gebilden mit parasitischen Protozoen zu tun haben, so war man bestrebt eine Erklärung dieser jedenfalls äußerst unnatürlichen Auflösung zu geben. Alle Forscher nehmen an, daß infolge des starken Wachstums des Schlauches, die in den mittleren Körnern verteilten Sicheln in ungünstige Ernährungsbedingungen geraten. Infolge eines Nahrungsmangels treten also diese pathologischen Erscheinungen

an den Sicheln auf. Es wird außerdem von Pfeiffer, Rh. Erdmann angenommen, daß die Sicheln nach ihrer Ausbildung, durch die Schlauchhülle nach außen hin durchtreten — sie wandern also aus, um die Selbstinfektion weiter auszubreiten. Häufig begegnen wir nicht allein im Zentrum sondern auch an der Peripherie des Schlauches, wo sich die Ausbildung der Sicheln noch in voller Blüte befindet, einem Zerfall dieser Gebilde.

Ich muß gleich hervorheben, daß das Endschicksal aller Sicheln in einer kompletten Auflösung derselben besteht. Das Verschwinden der Sicheln kann bereits in sehr jungen Schläuchen einsetzen. So konnten wir das Verschwinden dieser Gebilde bereits bei Schläuchen von 0,6 mm Durchmesser beobachten. Bei einem Schlauch von 1 mm Durchmesser war über zwei Drittel des Innenraumes bereits von leeren Kammern eingenommen. Alle alte Schläuche, die über die Oberfläche des Ösophagus warzenförmig vorspringen und nur durch eine dünne Brücke nunmehr mit ihm in Verbindung stehen, sind ganz leer. In alten Schläuchen sind gewöhnlich nur die äußeren 2—3 seltener bis zu vier Reihen der Kammern voll mit „Pansporoblasten“ und Sicheln, alle übrigen aber — die 20—25 Reihen und darüber sein können — sind vollkommen leer.

Wie mein Freund Prof. Dr. Josef Fiebiger in der vorläufigen Mitteilung hervorgehoben hat, müssen wir daher das Zugrundegehen der Sicheln für den normalen, in den Entwicklungskreis dieser Gebilde gehörigen Vorgang ansehen. Wir müssen daher diesen Auflösungsprozeß der Sicheln an dieser Stelle näher beschreiben.

Die Bildung der Sicheln selbst, sowie die verschiedenen Veränderungen ihrer Struktur, stellen eigentlich bereits das Vorspiel dieses Auflösungsprozesses der Kerne dar. Denn die Bildung der Sicheln ist nach allen Erscheinungen als ein Zerfall und nicht als ein Ausdruck einer erhöhten vegetativen Tätigkeit dieser Gebilde anzusehen. Dieser Zerfallsprozeß geht, wie wir sahen, parallel mit einer Veränderung der Kernstruktur und Form einher. Wie aus einem früheren Kapitel hervorgeht, werden sie zuerst in vielen Fällen ganz platt. Ihr Chromatin beginnt bald zu schwinden. Nicht selten treten an ihm pyknotische Erscheinungen auf. Jetzt erscheint das Chromatin wie diffus im Kerne verteilt und oft verdeckt es jede Struktur. Schließlich erfährt die Struktur des letzteren eine so weitgehende Veränderung, daß er von dem umgebenden Plasma nicht mehr unterschieden werden kann. Bei seinem Zerfall (Teilung) in Stücke, zerfallen auch die in ihm enthaltenen Nucleolen in Körnchen, die zuerst in dem ganzen Kern verstreut sind. Diese Körnchen erfahren

eine sukzessive Auflösung. Der Rest der Körnchen sammelt sich an einer Stelle in der Sichel, um sich bald ebenfalls aufzulösen. Manchmal sammeln sich diese Körner an dem dünneren Ende der Sichel stärker an, wo man ihre allmähliche Auflösung leicht verfolgen kann. Zuerst sind die einzelnen Körnchen deutlich voneinander zu unterscheiden; bald darauf erfahren sie jedoch eine stärkere Verdichtung, wobei sie gleichzeitig merklich aufquellen. Bald darauf verschmelzen sie miteinander und bilden an der Spitze der Sichel eine schleimige Masse, die eine stärkere und diffuse Färbbarkeit des vorderen Sichelteils hervorruft. Bald verschwinden alle Körnchen und die beiden Enden der Sichel nehmen eine fein granulierte, nicht selten sogar eine ganz homogene Struktur an. Die mittlere Partie der Sichel ist noch wabig bis vacuolär. Jetzt fangen nun die Sicheln sich aufzulösen an. Der Auflösungsprozeß beginnt an der einen Spitze.

Es findet eine Verflüssigung des Plasmas statt, wobei sich ständig kleine Körnchen (Tröpfchen) ununterbrochen von der Sichel ablösen (Fig. 37). Gleichzeitig blaßt ihr Inhalt bedeutend ab. Am längsten erhält sich von ihnen ein grobmaschiges Gerüst. Man sieht die Überreste der Sicheln als ovale oder sphärische Körper in den Kammern liegen. Schließlich zerfällt auch dieser letzte Rest der Sicheln in Körnchen, oder kleinen Bläschen, die sich ihrerseits bald verflüssigen. An der Stelle der Sicheln sieht man zuletzt in den leeren Kammern entweder Haufen von Körnern oder es erscheint der ganze Kammerraum strukturlos; offenbar hat sich alles verflüssigt. Fig. 38 stellt verschiedene Stadien der Auflösung der Sichelkörper dar. Der Auflösungsprozeß geht bei allen Sicheln in der soeben beschriebenen Weise vor sich. Es sind nur einige unbedeutende Unterschiede zu konstatieren, die offenbar in Zusammenhang mit der Struktur der Sicheln selbst steht, die aber von keinerlei prinzipieller Bedeutung sind.

In Fällen, wo alle Sicheln aus dem Schlauch verschwunden sind, haben auch die übrigen Bestandteile des letzteren eine weitgehende Veränderung erfahren. Die normalen Cystenhüllen sind meist vollständig zugrunde gegangen. Sie sind durch eine mehrschichtige Bindegewebskapsel ersetzt, in welcher Leucocyten eingelagert sind. Die Bindegewebszellen stehen palisadenartig um das Lumen herum. In der Mitte des Schlauches sind noch Reste des Kammergerüstes wahrnehmbar, welche mit Detritus und einer größeren Anzahl von eingewanderten Leucocyten und eosinophilen Zellen gefüllt sind.

Manche von den bei der Auflösung der Sicheln zutage tretenden Erscheinungen sind auch von den früheren Autoren verfolgt worden.

ALEXEIEFF hat in dieser Hinsicht einen Teil der Auflösungsprozesse richtig verfolgt und unsere Beobachtungen bestätigt. Er hat jedoch diesen Prozeß in Zusammenhang mit einer bestimmten sekretorischen Tätigkeit des Parasiten gebracht, von der jedoch weiter unten ausführlicher gesprochen wird.

Er beschreibt ebenfalls das Verschwinden der anfänglich sehr zahlreich in der Mitte der Sicheln vorhandenen siderophilen Körnchen. Gleichzeitig mit der Auflösung dieser Körnchen verschwinden auch die siderophilen Eigenschaften des Vorderendes (Partie anténucleaire) der Sichel. Das Vorderende sowie die Mitte dieser Gebilde färben sich nun jetzt lebhaft mit Eosin. Der Sichelkörper wird nun weniger gekrümmt; er wird auch breiter. Schließlich degeneriert die „Spore“, wobei als Endresultat dieses Auflösungsprozesses ein formloser Körnchenhaufen entsteht.

In der soeben angeführten Arbeit hat sich ALEXEIEFF ausführlich mit diesem Auflösungsprozeß befaßt und er hat ihn bis zum gewissen Grade ebenfalls als eine Art Sekretion gedeutet. Von der Parasitennatur dieser Gebilde eingenommen und auf die Myxosporidien Bezug nehmend hat er versucht, diese Erscheinung auf eine geistreiche Weise zu erklären.

Bereits LAVERAN et MESNIL (1909), ferner RH. ERDMANN (1910), TEICHMANN (1910), TEICHMANN und BRAUN (1912) haben festgestellt, daß in dem Sarkosporidienschlauch ein Sekret — das Sarkosporidiocystin — gebildet wird, das giftige Eigenschaften aufweist. Dieses Sekret, das als Auflösungsprodukt der metachromatischen Körper (Zymogenkörper) aufgefaßt wird, übt nach RH. ERDMANN einen schädlichen Einfluß auf die Epithelzellen des Darmes aus, in welchem die Sarkosporidienkeime geraten sind. Es ruft eine Desquamierung der Epithelzellen des Darmes hervor. Dadurch wird das Eindringen der Sicheln in die Darmwand erleichtert. Nun wird diesen metachromatischen Körpern als Ganzes von ALEXEIEFF eine ähnliche Bedeutung zugeschrieben, welche die Polkapsel der Sporen der Cnidosporidien bei der Neuinfektion im Darm des neuinfizierten Wirtes spielt. Nach ihm ist die Sichel der Sarkosporidien nicht morphologisch, wie dies LAVERAN et MESNIL wollen — sondern funktionell mit der Spore der Myxosporidien vergleichbar.

Zur Erklärung aber des Zerfalls der Sarkosporidiensichel in den zentralen Kammern des Schlauches stellt er weiter eine Hypothese auf. Er nimmt an, daß sie in Fällen, wo der Schlauch ständig in dem Muskel bleibt und die Sicheln diejenige Reife erreicht haben, bei der die Sekretionsprodukte entleert werden sollen, eine Autolyse

erfahren. Nun gehen aber auch andere noch nicht vollkommen reife Sicheln in Auflösung sobald sie in Berührung mit dem aus ähnlichen aber reifen Sicheln stammenden Sarkosporidiocystin kommen. Er schreibt diesem Sekret — dem Sarkosporidiocystin, auch Zymase — eine proteolytische Wirkung zu.

Man könnte vielleicht versuchen, die giftigen Eigenschaften dieses Sekretes fremden Tieren gegenüber gegen diese Auffassung anzuführen. Wir dürfen jedoch nicht vergessen, daß es auch andere Drüsen gibt, deren Sekrete ebenfalls giftig auf andere Tiere einwirken. Hier führe ich nur die Schlangengifte an, welche eine ähnliche physiologische Wirkung auf Wirbeltiere ausüben, wie die Toxine der Bakterien und Protozoen.

Die Annahme von Rh. Erdmann und Alexeieff, daß das Sarkosporidiocystin eine biologische Anpassung der Sarkosporidien darstellt zum leichteren Eindringen in die Darmwand des neuinfizierten Wirtes, klingt so unwahrscheinlich, daß es tatsächlich eines besseren Beweises bedarf, um sie nur einigermaßen als zutreffend bezeichnen zu können. Sein Vergleich mit der Myxosporidienpolkapsel in physiologischer Hinsicht ist so unzureichend begründet, daß wir ihn, so sehr wir seine geistreiche Natur anerkennen, doch ablehnen müssen. Denn wir sind noch nicht einmal über die Wirkungsweise der Polkapsel der Myxosporidien selbst ins klare gekommen. Ferner wissen wir nicht, ob bei den Myxosporidien ein Sekret aus der Kapsel entleert wird, das das Epithelium alteriert und auf diese Weise das Eindringen der Parasiten erleichtert oder wird nicht das Eindringen der Parasiten doch durch die ausgeschleuderten Fäden der Polkapsel in der Weise erleichtert, daß diese Fäden sich in die Darmwand des Wirtes einbohren und das Wegtragen der Spore verhindern. Außerdem können wir Rückschlüsse auf die Wirkungsweise dieser Kapsel nur nach Analogien mit der Nesselkapsel der Cölenteraten machen, die aber von einem sehr problematischen Wert sind. Außerdem ist auch eine solche Vergleichsweise doch viel zu weit ausholend, um sie ohne weiteres zur Geltung kommen zu lassen.

5. Junge und Anfangsstadien der Sarkosporidien.

Es ist eine Anzahl von Bildern beschrieben und gezeichnet worden, die man teilweise mit Recht, teilweise aber ganz willkürlich als Anfangsstadien eines Sarkosporidienschlauchs ansieht.

Als junge Sarkosporidienschläuche müssen solche bezeichnet

werden, die sehr klein sind und außerdem in ihrem Innern noch keine Kammerung vorhanden ist. Bei solchen Stadien besteht der Schlauchinhalt in den meisten Fällen aus runden oder polygonalen Körperchen, die durch ihre Struktur bereits an die Sporoblasten der erwachsenen Schläuche erinnern. Oft sind aber in solchen Schläuchen die Sicheln bereis auch zur Ausbildung gekommen. Mir sind sogar oft Bildern begegnet, wo der junge Schlauch ganz von solchen Sicheln erfüllt ist. Bläschenförmige Kerne sind in solchen Schläuchen nur in einer spärlichen Menge vorhanden. In einem solchen Falle sind sie oft nur einseitig angehäuft. Einen ähnlichen Fall haben wir in Fig. 1 gezeichnet. Hier sind neben den innerhalb der Schlauchhülle liegenden bläschenförmigen Kernen noch drei andere von derselben Struktur zu sehen, die aber außerhalb der Schlauchhülle liegen. Der mittlere Kern ist teilweise in letzterer eingedrungen. Auch einige der innerhalb der Schlauchhülle sich befindenden Kerne liegen noch teilweise in letzterer, was man daran erkennen kann, daß die Schlauchwand an diesen Stellen kleine Ausbuchtungen aufweist.

In einem Stadium, das um etwas jünger ist als das vorherbeschriebene, besteht der Schlauchinhalt nur aus runden Körpern (Kernen), die gewöhnlich eine lockere Verteilung darin aufweisen.

Das nächste jüngere Stadium ist in Fig. 39 gezeichnet. Hier ist zwar die Einteilung des großen Kerns in kleine runde Körpern bereits erfolgt. Doch sind letztere noch nicht auseinander gefallen. Eine Schlauchhülle ist hier noch nicht differenziert. Die dem Gebilde vorbeilaufenden Muskelfibrillen weisen eine ganz normale Struktur auf. Das Gebilde ist schief getroffen. Es läßt sich auf 7—8 Schnitten verfolgen, hat also eine Länge von ca. 60 μ.

Wir haben auch andere jüngere Stadien beobachtet; die auch von früheren Forschern beschrieben werden. Ich muß jedoch bekennen, daß es in den meisten Fällen mehr eine Sache des Empfindens ist, diese Gebilde als ganz junge Anfangsstadien des Sarkosporidienschlauches anzusehen. Als solche Stadien sehe ich die in Fig. 40—45 gezeichneten Bilder an. Hier handelt es sich wohl um Muskelkerne, die bereits eine merkliche Veränderung in ihrer Struktur erfahren haben. Die Veränderung besteht in dem Verschwinden des chromatischen Gerüstes. Nur die Kernmembran ist noch deutlich zu sehen.

Alle Kerne befinden sich in der Mitte der Muskelbündel. Letztere weisen an dieser Stelle absolut gar keine Veränderung auf. In vielen Fällen stehen die Muskelfibrillen in einer engeren Berührung

mit diesen Kernen. Oft bildet sich zwischen dem Kern und den Muskelfibrillen ein leerer Raum, der aber möglicherweise als eine Folge der Konservierung anzusehen ist, bei der eine stärkere Schrumpfung des Kerns erfolgt ist.

Die ersten Schritte beim Übergang eines Muskelkerns in eine Sarkosporidienschlauchanlage bestehen einerseits in einer Veränderung seiner Struktur, andererseits in einer beträchtlichen Vergrößerung derselben. Bei der Veränderung seiner Struktur erfährt vor allem das Chromatin eine tiefeingreifende Umwandlung. Zuerst weisen die Kerne ein stark färbbares Gerüst auf, in welchem gewöhnlich in einer wechselnden Menge Chromatinkörperchen eingelagert sind. Es erfolgt offenbar eine partielle Auflösung des Chromatins, wodurch eine gleichmäßigere jedoch etwas stärkere Färbung des Kerns hervorgerufen wird. Der Rest des Chromatins dürfte eine stärkere Ansammlung an einzelnen Stellen im Kerne erfahren. Diese chromatischen Ansammlungen sind anfänglich locker, außerdem senden sie in verschiedene Richtungen längere und kürzere Auswüchse, die die Überreste des in Auflösung begriffenen chromatischen Gerüstes darstellen dürften (Fig. 44, 45). Später verschwinden jedoch diese Auswüchse und die chromatischen Ansammlungen besitzen dann eine runde Form. An der Kernperipherie ist längere Zeit eine sich stärker färbende Schicht zu sehen, die offenbar durch eine stärkere Ansammlung des Chromatins an dieser Stelle hervorgerufen wird. Nicht selten ist diese intensiv färbbare Schicht auch nachdem der Zerfall des Kerns in kleinere Stücke erfolgt ist, noch deutlich zu konstatieren. Schließlich bekommt ein solcher Kern eine deutliche wabige Struktur und in seinem Inneren sind eine Anzahl von chromatischen Ansammlungen zu sehen, die tatsächlich ganze Kerne vortäuschen können. In einem solchen Stadium kann der Muskelkern ein vielkerniges parasitisches Protozoon vortäuschen, in welchem eben diese chromatischen Ansammlungen die Kerne des Protozoons darstellen.

Gleichzeitig mit dieser weitgehenden Veränderung in der Struktur erfolgt auch ein beträchtliches Wachstum des Kerns. Letzterer erfährt eine Streckung in die Länge, wobei diese Längsstreckung mit der Richtung des Muskelbündels zusammenfällt. Offenbar findet er in dieser Richtung den kleinsten Widerstand. Bei dieser Streckung erfährt er eine Drehung um seine Längsachse, so daß er oft eine spiralförmige Gestalt annehmen kann. Nicht selten treibt er über seine Oberfläche einzelne Auswüchse (Fig. 44), so daß er, wenn letztere groß geworden sind, wie verzweigt aussieht.

Ich habe auch eine Anzahl anderer Muskelkerne zu Gesicht bekommen, die eine gewisse Veränderung in ihrer Struktur erfahren haben. An ihrer Kernnatur ist aber nicht im geringsten zu zweifeln. Solche Kerne möchte ich in Zusammenhang mit den Sarkosporidienschläuchen bringen, indem ich sie als die allerjüngsten Stadien der Sarkosporidien ansehe. Doch ist dies mehr eine Sache des persönlichen Empfindens. Ich will daher davon Abstand nehmen, Zeichnungen von solchen Kernen zu geben. —

Jüngere Stadien von Sarkosporidien haben verschiedene Autoren beschrieben. Zuerst hat BERTRAM (1892) zwei ganz junge Stadien gezeichnet, von denen das eine Stadium aus zwei Zellen besteht. die sich in einem Muskelbündel befinden. Das andere Stadium stellt einen länglichen Körper dar, der durch das Auftreten einer Anzahl stärker färbbarer Wände in seinem Innern eine Teilung in mehrere Stücke erfahren hat. Dieses Stadium wird als BERTRAM'sches bezeichnet. Ein nächstfolgendes um etwas älteres Stadium wurde von FERRET (1899) beschrieben. Es hat die Gestalt einer Morula, von dem vorhergehenden Stadium zeichnet es sich durch seine beträchtlichere Größe aus. In der Literatur ist es als das FERRET'sche Stadium bekannt. RH. ERDMANN hat ebenfalls eine Anzahl von Gebilden beschrieben und gezeichnet, die sie in den Entwicklungskreis der Sarkosporidien einbezieht und als ganz junge Stadien deutet. Doch sind ihre Angaben sehr widersprechend und tragen den Stempel der Willkürlichkeit. So beschreibt sie einerseits amöboide Stadien im Darm der Versuchstiere, die doch in die Darmwand der Versuchstiere eindringen müssen, um die Infektion hervorzurufen. Andererseits beschreibt sie das Eindringen von sichelförmigen Körpern. die die Sarkosporidiensicheln darstellen sollen. Ferner sind die übrigen aus der Darmwand und aus den Muskeln beschriebenen ganz jungen Stadien ganz unmotiviert in den Entwicklungskreis der Sarkosporidien einbezogen. Nur nach einem Centriol (Caryosom) ähnlichen Körnchen, das in ihrem Innern zu sehen ist und das sie als ihren Kern ansieht, erschließt sie ihre Zugehörigkeit zu den Sarkosporidien. Ich glaube jedoch, daß die meisten dieser Körperchen nichts mit diesen letzteren zu tun haben. Andererseits hat sie auch Stadien angeführt, die zwar zu den Sarkosporidien gehören dürften, ihre Darstellung ist jedoch sehr stark schematisiert. Ein solches stark schematisiertes Stadium dürfte z. B. Fig. 9 auf Taf. XVIII ihrer Abhandlung (1910) darstellen. In dieser Zeichnung entspricht weder das Plasma noch die vermeintlichen Kerne des Parasiten der

Struktur eines gut fixierten Objektes. Solche körnchenförmige Kerne sind mir in keinem Stadium und bei keiner Fixierung begegnet.

Von Betegh und Dorsch (1912) haben ferner eine Anzahl Gebilde aus einigen Vögeln (Hahn, Gans), die sie künstlich zu infizieren versucht haben, beschrieben, und die sie als die allerjüngsten Anfangsstadien der Sarkosporidien angesehen. Etwas einigermaßen Positives läßt sich aber darüber nicht sagen. Es wäre interessant zu verfolgen, ob sie nicht veränderte Muskelkerne darstellen, was mir sehr wahrscheinlich zu sein scheint. Ob sie aber zu den Sarkosporidien hinüberleiten, ist eine andere Frage, die zu entscheiden wäre.

Jedenfalls haben wir aus der bisherigen Literatur keine jungen Stadien, die zugunsten der Annahme sprechen würden, daß die Sarkosporidien parasitische Protozoen wären.

II. Allgemeiner Teil.

1. Über die Natur der Sarkosporidien.

Von allen neueren Forschern werden die Sarkosporidien als parasitische Protozoen angesehen. Als entscheidend bei der Beurteilung der Natur der Sarkosporidien wird wohl die sichelförmige Gestalt der meisten der Elemente angesehen, die den Inhalt eines Schlauches ausmachen. Ich muß bekennen, daß die Form dieser Gebilde, nach Analogie mit einigen anderen Protozoen, sehr für eine Protozoennatur derselben spricht. Wir müssen jedoch weiter prüfen, ob auch die übrigen Eigenschaften zugunsten dieser Annahme sprechen würden.

Sobald wir nach der Form der Sicheln auf die Protozoennatur der Sarkosporidien schließen, ist bereits ihre Stellung im System dieses tierischen Stammes fixiert. Einen Platz müssen und können wir ihnen nur in der Nähe der Gregarinen und der Coccidien kurz in der Unterklasse „Telosporidia" resp. noch in der Nähe der Hämosporidien einräumen. Diese Protozoengruppe charakterisiert sich jedoch durch bestimmte Eigenschaften, die in ihrer Struktur und vor allem aber in der Art und Weise ihrer Entwicklung gegeben sind. Sobald die Miescher'schen Schläuche in dieser Hinsicht unserer Erwartung nicht entsprechen, verliert auch die sichelförmige Gestalt des Schlauchinhaltes jene Bedeutung, die man ihr bei der Beurteilung

der Natur dieser Gebilde beimißt und man muß sie nur als eine ganz zufällige Erscheinung hinstellen.

Nun wollen wir unsere Kenntnisse über die Sarkosporidien einer näheren Kritik unterziehen. Ich muß gleich hervorheben, daß wir kaum zwei Schriften darüber zu lesen bekommen können, wo die Angaben der Autoren, sei es in bezug auf die Struktur, sei es in bezug auf die Entwicklung dieser Protozoen, eine wenigstens so weitgehende Übereinstimmung aufweisen, daß wir wenigstens den Eindruck bekommen, daß wir hier mit Vertretern einer ganz bestimmten Gruppe parasitischer Protozoen zu tun haben.

Was zunächst die Entwicklung dieser Gebilde anbelangt, so werden die Sicheln in dem Schlauche als den Sporozoiten der übrigen Telosporidien entsprechend angesehen. Da dabei keine Cysten gebildet werden, so müssen wir sie den Hämosporidien nähern. Sie würden also demjenigen Abschnitt des Entwicklungscyclus der letzterwähnten Gruppe entsprechen, welcher sich in der Darmwand der Mücke abspielt. Der Bildung der Sarkosporidiensicheln müssen also geschlechtliche Prozesse vorausgegangen sein, deren Verlauf wir, nach Analogie mit den übrigen Vertretern der Telosporidien — Gregarinen, Coccidien — und der Gruppe der Hämosporidien, ungefähr vermuten können. Bei sorgfältigster Untersuchung ist jedoch noch keinem Forscher gelungen, etwas bei der Entwicklung der Sarkosporidienschläuche festzustellen, das man als geschlechtliche Prozesse deuten könnte.

Diesen Umstand, auf den bereits in der vorläufigen Mitteilung von Professor Dr. J. FIEBIGER aufmerksam gemacht wurde, sucht ALEXEIEFF in seiner bereits mehrfach zitierten Schrift mit folgenden Ausführungen zu entkräftigen. Das Fehlen von geschlechtlichen Prozessen hat an sich nichts Auffallendes, das uns überraschen kann. Ein für allemal müssen wir uns an den Gedanken gewöhnen, daß, obwohl eine der Vermehrungsweisen (die Sporogonie) oft von geschlechtlichen Prozessen begleitet wird, dies keine absolut unumgängliche Notwendigkeit ist. An und für sich stellt der Geschlechtsprozeß keinen Vermehrungsprozeß dar, vielmehr führt er in den meisten Fällen zu einer Verminderung (zwei Zellen vereinigen sich zur Bildung eines einzigen Individuums). Dies ist ein Regulationsprozeß, welcher oft eine Vermehrungsart begleitet, der jedoch durch irgendeinen anderen Prozeß ersetzt werden kann (Autogamie, Chromidienausscheidung usw.). Speziell für den uns hier interessierenden Fall scheint die Autoregulation durch die mehrfache Ausstoßung des Caryosoms zu erfolgen. Eine Ausstoßung, deren Zweck in der

Bildung von Prozymogenkörnchen besteht. Hier habe ich in Übersetzung die ganze Ausführung ALEXEIEFF's gegeben, um zu zeigen, wie er durch die HERTWIG'sche Lehre von der Kernplasmarelation einerseits das Fehlen des Geschlechtsprozesses erklärt, indem er ihn durch eine Ausscheidung von Chromatin aus dem Kern ersetzt, andererseits läßt er die Sekretbildung in der Zelle durch die aus dem Kern ausgeschiedenen Chromidien erfolgen; wiederum also die Kernplasmarelation. Die Unterdrückung des geschlechtlichen Prozesses des Organismus wird also durch Bildung von Prozymogenkörnern entschädigt.

Ich glaube, daß mir der Begründer der Lehre von der Kernplasmarelation, R. HERTWIG, vollkommen beistimmen wird, wenn ich gegen eine so unmotivierte Verwertung dieser Lehre als „Deus ex machina" nicht allein von ALEXEIEFF, Verwahrung einlege. Denn durch ein ähnliches Verfahren bringt man sehr unverdient diese Lehre in Mißkredit. Außerdem ist der Wissenschaft auch nichts damit gedient, da man dadurch keine Erklärung der in Erörterung stehenden Frage gibt.

Was die zweite Tatsache anbelangt, daß die Sporen (die Sicheln) keine Cystenhülle besitzen, so sucht sie ALEXEIEFF auf folgende Weise zu entschuldigen.

Das Fehlen einer festen Hülle bei den Sporen (Sicheln) hat absolut nichts zu bedeuten (ne démontre absolument rien); die Sporen der verschiedenen Protozoen sind durch die Umhüllungen sehr ungleichmäßig geschützt und sind daher sehr verschiedentlich widerstandsfähig. Es ist unmöglich, bestimmt zu sagen, von welchem Moment an man das Recht hat, ein Gebilde, das am Ende einer Entwicklung gebildet worden ist, von einer konstanten und charakteristischen Form und verhältnismäßig steif ist, als Spore zu bezeichnen. Das Vermögen der Spore (der Sichel) der Sarkosporidien, sich durch Teilung zu vermehren, dürfte eben dem Umstande zu verdanken sein, daß ihre Hülle nicht steif ist, und sie erlaubt eine Längsteilung des Elements. Hier habe ich wiederum ALEXEIEFF in Übersetzung wörtlich zitiert und überlasse es den Fachleuten in der Sporozoenforschung, die Stichhaltigkeit dieser Ausführung zu beurteilen.

Wenn wir hingegen die in den Schläuchen sich entwickelnde Sicheln als das Resultat einer Schizogonie (ungeschlechtliche Vermehrung) ansehen, so müssen wir sie als Merozoiten (Schizonten) betrachten. In diesem Falle müssen wir auch den geschlechtlichen Teil des Entwicklungscyclus dieser Parasiten suchen, der nach einer Analogie mit den Coccidien sich entweder in demselben Wirt oder

in einem zweiten abspielen wird. Dieses Stadium dürfte demjenigen Teil der Entwicklung der Aggregata entsprechen, der in der Darmwand der Krabben auftritt. Da die MIESCHER'schen Schläuche eine äußerst große Verbreitung, nicht allein unter den Individuen einer und derselben Art, sondern auch unter ganz verschiedenen Tierarten und Klassen, aufweisen, wäre es sehr sonderbar, wenn uns bis jetzt das Vorkommen des sporogonialen Stadiums entgangen wäre, falls es in der Tat existieren würde. Wir kennen absolut gar keine Parasiten, die wir als zu den Sarkosporidien zugehörend betrachten könnten. Zwar hat CHATTON (1910) die sogenannten Cysten von GILRUTH als die ungeschlechtliche Hälfte der Entwicklung dieser Parasiten angesehen, doch ist seine Ausführung viel zu problematisch, außerdem wird diese Behauptung, durch keine Beobachtung, die zu ihren Gunsten sprechen könnte, unterstützt. Wir müssen außerdem die geschlechtliche Generation, nicht die ungeschlechtliche, suchen. Denn, wir wiederholen es hier noch einmal, die MIESCHER'schen Schläuche in der Muskulatur können nur als eine ungeschlechtliche Generation angesehen werden.

Wir müssen auch an die mögliche Übertragungsweise und auf die Neuinfektion denken. Die MIESCHER'schen Schläuche können nur durch eine passive Übertragung in einen neuen Wirt gelangen. Dies könnte nur durch eine Verfütterung des von MIESCHER'schen Schläuchen durchsetzten Gewebes erfolgen. In der Natur kann dies in der Weise geschehen, daß das infizierte Tier von einem anderen gefressen wird. Nun möchte ich aber doch wissen, welchem Tier der Büffel z. B. regelmäßig zur Beute fällt, damit die Übertragungsmöglichkeit gesichert werden kann. Höchstens könnten wir ein gegenseitiges Infizieren zwischen Maus und Katze, Schaf und Wolf usw. erwarten. Wir kennen aber weder in der Katze noch im Wolf Parasiten, die man als die andere Hälfte des Entwicklungscyclus der MIESCHER'schen Schläuche ansehen könnte.

Da man also an den MIESCHER'schen Schläuchen absolut nichts finden kann, welches an die Entwicklung der Telosporidien erinnert, so hat man eine Ähnlichkeit in der Entwicklung dieser Gebilde und der Myxosporidien — kurz der Neosporidien — gefunden. Es gehört in der Tat viel guter Wille dazu! Denn bei einer einigermaßen sorgfältigen Untersuchung wird man gleich feststellen, daß beide Gruppen absolut nichts Gemeinsames in ihrer Entwicklung aufweisen. Die bei den Sarkosporidien zu Pansporoblasten proklamierten Gebilde sind in bezug auf ihre Struktur etwas Grundverschiedenes von den Pansporoblasten der Neosporidien. Sie stellen auch nicht den

Mutterboden dar, wie dies irrtümlich angenommen wird, der durch eine ununterbrochene Vermehrung das Wachstum des Schlauches unterhält. Außerdem weisen die Sicheln der MIESCHER'schen Schläuche eine so grundverschiedene Struktur von derjenigen der Sporen der Neosporidien auf, daß es auch kein Vergleich resp. Homologisierung durchgeführt werden kann. Man hat zwar auch in den Sicheln ähnliche Strukturen (Polkapsel, Faden usw.) beschrieben. Von dem ist jedoch absolut nichts zu finden und ich glaube, daß man bei der Beschreibung dieser Strukturen sehr stark von der Annahme beeinflußt war, daß die Sarkosporidien eine nähere Verwandtschaft mit den Neosporidien aufweisen, welche Annahme sich nur auf das Aussehen der Schläuche selbst gründet. Die Homologisierung, die neuerdings ALEXEIEFF durchführt, wird auf Grund solcher Eigenschaften gemacht, daß man darauf nicht einzugehen braucht. (Jodophile Vacuole, Homologisierung in physiologischer Hinsicht des von der Sichel produzierten Sekretes mit der Polkapsel der Myxosporidien usw.) Denn auf eine solche Weise kann man schließlich jede Annahme verteidigen. Ich muß aber an dieser Stelle hervorheben, daß mir schon 1909 die sekretorische Tätigkeit der Sicheln nicht entgangen ist, und es war für mich auch ein Grund mehr, mich gegen die Protozoennatur der Sarkosporidien auszusprechen und trotz der geistreichen Ausführungen ALEXEIEFF's bestehe ich noch immer darauf, daß dieser Umstand sehr gegen seine Auffassung spricht.

Nachdem wir hier nun die sekretorische Tätigkeit der Sicheln gestreift haben, müssen wir gleich auf eine andere Frage eingehen, die von der allergrößten Bedeutung bei der Beurteilung der Natur der MIESCHER'schen Schläuche ist.

Es kann nämlich eingewendet werden, daß uns keine pathologischen Prozesse bekannt sind, durch welche die Gewebszellen veranlaßt werden, charakteristische und gleichgeartete Gebilde in so kolossaler Anzahl zu erzeugen. Demgegenüber ist aber zu entgegnen, daß das Endresultat dieser Prozesse nicht die Bildung dieser gleichgeformten Körper — der Sicheln — ist, sondern die Bildung eines Sekretes, dessen Bedeutung wir in der Physiologie des Tieres nicht kennen. Denn wie wir bereits in dem speziellen Teil dieser Abhandlung hervorgehoben haben, sehen wir das Zugrundegehen dieser Gebilde als den normalen in ihrem Entwicklungskreis gehörigen Vorgang an. Demgegenüber wendet ALEXEIEFF ein: „Das zugrundegehen der Sporen darf uns nicht in Verlegenheit bringen (ambarassée). Man kennt bei den Protozoen so viele Fälle von physiologischer Degeneration; der natürliche Tod stellt keine nur für die Metazoen

reservierte Erscheinung dar. Dies ist aber unserer Meinung nach zu mindesten sehr „engros“ gesprochen. Schließlich ist aber auch über das Existieren einer physiologischen Degeneration bei Protozoen sehr zu streiten. Außerdem hat diese physiologische Degeneration bei Protozoen, über die in den letzten Jahren so heiß hin und her gestritten wird, nichts mit dem Zugrundegehen der Sicheln zu tun.

Das regelmäßige Zugrundegehen der Sicheln ist für den Fortbestand der Sarkosporidien von einer so grundlegenden Bedeutung, daß dieser Umstand allein als ausreichend angesehen werden kann, um die Annahme unwahrscheinlich zu erklären: es würde sich bei den Miescher'schen Schläuchen um parasitische Protozoen handeln. Denn vom biologischen Standpunkte aus wäre dies eine solche widersinnige Einrichtung, die man der Natur kaum zumuten kann. Man wird dieser Erscheinung eine Erklärung zu geben versuchen, daß das Zugrundegehen der Sicheln im Innern der Schläuche durch ungünstige Lebensbedingungen hervorgerufen wird. Eine solche Erklärung mag teilweise ihre Geltung haben. Wodurch wird aber die Existenz der Art vermittelt, nachdem alle Sicheln zugrundegehen? Oder lassen wir sogar einen Augenblick zu, daß wenigstens ein kleiner Teil der Sicheln intakt bleibt, der die Ausbreitung der Art vermittelt. Welches Interesse, welche Vorteile kann die Art jedoch an diese eigentümliche biologische Anpassung haben?

Aus vorstehender Ausführung haben wir entnommen, daß die Sarkosporidiensicheln, weder morphologische, noch entwicklungsgeschichtliche Merkmale aufweisen, die auf eine nähere Verwandtschaft dieser Gebilde mit den Telosporidien und Neosporidien hindeuten. Telosporidienähnlich ist bis zu einem hohen Grade nur ihre bananenförmige Gestalt; da ihnen aber alle übrigen Eigenschaften fehlen, müssen wir jedoch diesem Merkmale jene Bedeutung absprechen, die ihm bis jetzt beigemessen wurde und es, wie bereits eingangs dieses Kapitels erwähnt wurde, als eine ganz zufällige Erscheinung hinstellen.

Aus vorstehender Darlegung kann man ersehen, wie viele gewichtige Gründe gegen die Annahme von der Protozoennatur der Miescher'schen Schläuche sprechen. Da zugunsten dieser Annahme weder cytologische, noch entwicklungsgeschichtliche Daten angeführt werden können, bleiben nur die experimentellen Infektionsversuche durch Verfütterung von reifen Schläuchen übrig, die allerdings, sobald sie einwandfrei durchgeführt sind, die parasitäre Natur dieser Gebilde zu beweisen ausreichend sind. Wir müssen uns daher diese Versuche näher ansehen.

Künstliche Infektionen durch Verfütterung sarkosporidienhaltiger Gewebe hat zuerst Th. Shmit (1901) vorgenommen. Er verfütterte mit Sarkosporidien infizierte Muskulatur der Mäuse wiederum an uninfizierte Mäuse. Nach 45 Tagen haben sich die ersten Parasiten in der Muskulatur gezeigt, nach 90 Tagen sollen die Schläuche nur mit Rundkörpern erfüllt gewesen sein, welche von dieser Zeit an in die bekannten Sicheln zu zerfallen begannen. Diese Versuche wurden später von M. Koch (1903) bestätigt. Negri (1903) hat mit positivem Erfolg Mäusesarkosporidien an Ratten und Kaninchen verfüttert. Rh. Erdmann (1910) hat schließlich angegeben, daß das Hammelsarkosporid mit Erfolg auf die Maus überfüttert werden kann. Schließlich ganz zuletzt glaubt auch von Betegh (1912) mit Hammelsarkosporidien einen Hahn und zwei Enten infiziert zu haben.

Hier will ich diese Infektionsversuche einer kritischen Besprechung unterziehen und sehen, inwiefern sie den Anforderungen einer exakten Forschung genügen.

Die Fütterungsversuche wurden gewöhnlich in der Weise ausgeführt, daß man in gewissen Zeitabständen den zur Infektion bestimmten Tieren eine größere Menge von mit Sarkosporidien behaftetem Material zu verzehren gab. Für die Fütterungsversuche hat man gewöhnlich junge Tiere eines Wurfes genommen, die in demselben Käfig geboren, die gleiche Größe besaßen und stets unter gleichen Verhältnissen gelebt haben. Einen Teil von diesen Tieren hat man zuerst getötet und mikroskopisch untersucht; da man bei ihnen keine Sarkosporidien gefunden hat, erklärte man die am Leben übrig gebliebenen als sarkosporidienfrei und geeignet zur Ausführung des Versuches. Von diesen Tieren hat man einen Teil als Kontrolltiere gelassen. Nach vielen Wochen wurden die Tiere geschlachtet und da sich in den meisten Fällen in den Muskeln Sarkosporidien nachweisen ließen und da in den Kontrolltieren keine Parasiten zu finden waren, so hat man den Versuch als gelungen bezeichnet.

Hier muß hervorgehoben werden, daß man immer mit solchen Tieren experimentiert hat, bei denen die Sarkosporidiose eine regelmäßige Erscheinung ist, außerdem hat man konstatiert, daß mit dem zunehmenden Alter der Tiere die Sarkosporidien in verstärktem Maße auftreten. Diese Erscheinung kann mit der Auffassung, daß wir mit pathologischen Veränderungen von Gewebselementen des Tieres selbst zu tun haben, sehr in Einklang stehen. Diese Gebilde würden also auch ohne künstliche Infektion aufgetreten sein. Allerdings würden gegen eine solche Annahme die Kontrolltiere sprechen, die sarkosporidienfrei sein sollen. Demgegenüber könnte man jedoch

einwenden, daß man beim festen Willen etwas zu finden mit einer ganz anderen Energie und Aufmerksamkeit sucht als in Fällen, wo man wenigstens einigermaßen glaubt, daß die betreffenden Gebilde nicht existieren. Bei solchen Umständen ist daher leicht möglich, daß man hier in unserem Falle bei den Kontrolltieren die Schläuche übersehen hat. Wenn es überhaupt solche gibt, werden sie in einer begrenzten Anzahl sein und da es sich andererseits um Anfangsstadien handelt, die sehr klein sind, können sie noch leichter übersehen werden. Es muß außerdem auch auf dem Umstand aufmerksam gemacht werden, daß nicht überall Kontrolltiere gelassen wurden (Negre 1910, Erdmann 1910 usw.).

Allen Versuchen haftet ein gleicher Fehler an, der darin besteht, daß der Verlauf der Infektion Schritt für Schritt nicht verfolgt werden kann. Das Benehmen der Sicheln nach der Verfütterung — ob sie in dem Darmsaft eigene Bewegungen aufweisen, die Art und Weise ihres Eindringens in die Darmwand — konnte in keinem Falle beobachtet werden. Außerdem ist die Wanderung der Sicheln vom Darminneren bis zum definitiven Ort ihrer weiteren Entwicklung ebenfalls vollkommen unbekannt. Bei solchen Umständen sinkt der Wert und die Beweiskraft solcher künstlichen Infektionen sehr herab.

Trotzdem wollen wir uns die Resultate dieser künstlichen Infektionsversuche näher ansehen. Negri (1910a, b), Shmith, Koch und Negre haben die Infektion mit aus derselben Tierart stammenden Schläuchen ausgeführt, daher weist sie nichts an sich Auffallendes. Rh. Erdmann (1910) und von Betegh und Dorich haben hingegen mit Hammelsarkosporidien ganz verschiedene Tierarten, letzterwähnte Autoren sogar Vögeln mit einem positiven Resultat infiziert.

Negri hat an 12 Meerschweinchen Infektionsversuche mit *Sarcocystis muris* vorgenommen und bei 9 Tieren wurde ein positives Resultat erzielt. Bei zwei Meerschweinchen konnten keine Parasiten gefunden werden. Nach ihm sollen sich die Kontrolltiere als parasitenfrei erwiesen haben. Nach Negri sollen bei den Meerschweinchen in der Natur überhaupt keine Sarkosporidien vorkommen. Da die Beschreibung Negri's etwas zu kurz gehalten worden ist und die der Arbeit beigegebenen Zeichnungen mit einer mittelstarken Vergrößerung ausgeführt worden sind, so ist daraus nicht zu erschließen, ob die in den Muskeln der Meerschweinchen aufgetretenen Sarkosporidien dieselben sind, wie die mit den Muskeln der Ratten verfütterten.

Rh. Erdmann hat eine Anzahl von Stadien aus dem Darminneren und aus der Darmwand beschrieben und zum Teil auch

gezeichnet, welche die Veränderungen darstellen sollen, die der Parasit während seiner Wanderung durch den Tierkörper durchmacht. Sie sind jedoch so unsicher beschrieben und so willkürlich aneinander gereiht, daß man damit gar nichts anfangen kann. Sie findet sogar 14 bis 20 Tagen nach der Fütterung im Darmtraktus amöboide Formen, die sie wegen der Ähnlichkeit ihres Binnenkörpers mit dem Binnenkörper der Sarkosporidien zu den letzterwähnten bezieht. Solche ein- und zweikernige amöboide Formen hat sie auch in den Lumina und in den Zellen des Magens und der Dünndarmschleimhaut auf Schnittpräparaten beobachtet und gezeichnet. Andererseits beschreibt sie aber auch das Eindringen von typischen Sicheln in die Darmwand und gibt sogar zwei Abbildungen davon (Taf. 18 Fig. 1—2). Außerdem beschreibt sie auch das Hervorgehen eines Fadens von dem stumpfen Ende der Sichel. Diese Angaben stehen aber in einem so krassen Widerspruch mit unseren Begriffen über die Telosporidien und Neosporidien, daß es mich wundert wie er Rh. Erdmann selbst nicht aufgefallen ist.

Später hat sie viele drei-, zwei- und einkernige Formen in den Lymphspalten, Lymphgefäßen und im Fettgewebe beschrieben. Wenn man aber die dazu gegebenen Zeichnungen genauer betrachtet, sieht man sogleich, wie willkürlich diese Gebilde als verschiedene Entwicklungsstadien der Sarkosporidien bezeichnet worden sind. Denn es sind weder Übergangsstadien dazu gegeben, noch weist wenigstens ihre Struktur eine entfernte Ähnlichkeit mit der Struktur der Sarkosporidiensicheln auf. Ferner zeichnet sie eine typische Sichel in den Muskelfibrillen (Fig. 6 Taf. 18). Nach Rh. Erdmann gibt eine solche Sichel wahrscheinlich den Ursprung der Sarkosporidienschläuche im Muskel. Eine solche Sichel muß aber doch als das Resultat einer vorausgegangenen Schizogonie angesehen werden, von der sie uns aber gar nichts berichtet. Aus dieser kurzen Zusammenstellung kann man wohl ersehen, wie wenig zufriedenstellend die Resultate von den Fütterungsversuchen Rh. Erdmann's sein können.

Obwohl die in den Muskeln der Mäuse durch die Verfütterung von Hammelsarkosporidien hervorgerufene Sarkosporidienschläuche in mancher Hinsicht eine Ähnlichkeit mit den Sarkosporidien des Hammels aufweisen, stehen sie jedoch durch die meisten Eigenschaften den Maussarkosporidien viel näher. In Anbetracht der so wenig einwandfreien Ausführung der Versuche ist die Annahme sehr berechtigt, daß die künstliche Infektion nicht angegangen ist und daß die zur Beschreibung gelangten Entwicklungsstadien ent-

weder nichts mit den vermeintlichen Parasiten zu tun haben oder Stadien aus der „Mäusesarkosporidiose“ darstellen.

Die enorme Lebenskraft, die der Parasit durch sein Vermögen in allen möglichen Tierspecies zu leben zutage treten läßt, steht sehr in Widerspruch mit dem regelmäßigen Zugrundegehen der Sicheln im Innern der Schläuche. Man müßte ferner erwarten, daß die durch Fütterung hervorgerufene künstliche Infektion den geschlechtlichen Teil des Entwicklungscyclus des Parasiten darstellen soll. Anstatt dessen entwickeln sich jedoch Gebilde, die in Wirklichkeit ungeschlechtliche Formen darstellen.

Was die Experimente von von Betegh und Dorich (1912) anbelangt, so muß hervorgehoben werden, daß sie innerhalb von vier Monaten wahrscheinlich mindestens 15—20 mal dem Hahn und den Enten infiziertes Material zum Verzehren dargereicht haben. Trotzdem haben sie, nachdem sie die Tiere getötet haben, bei der mikroskopischen Untersuchung nur die allerjüngsten Stadien gefunden, von denen man sehr in Zweifel sein muß, ob es sich in der Tat um solche handelt. Wir sehen die von diesen Forschern erzielte Resultate als ganz unzureichend an und sie können unserer Meinung nach in dieser Gestalt bei wissenschaftlichen Erörterungen keine Verwertung finden.

Was alle bisherigen durch Fütterung vorgenommenen künstlichen Infektionen anbelangt, kann für sie das Fazit gezogen werden, daß sie nichts Positives gebracht haben, was für die parasitäre Natur der Sarkosporidien spricht. Diese Versuche sprechen hingegen eher zugunsten der Annahme, daß wir in ihnen mit keinen parasitischen Protozoen zu tun haben.

Einer der Einwände, welcher gegen unsere Auffassung, daß wir in den Miescher'schen Schläuchen mit Gewebselementen des Tieres selbst zu tun haben, erhoben werden könnte, wäre das Fehlen pathologisch-anatomischer Analogien. Man kennt keinen pathologischen Prozeß, durch welchen die Gewebszellen veranlaßt würden, charakteristische und gleichgeformte Gebilde in so kolossaler Anzahl zu erzeugen.

An diesem Einwand ist nur die Behauptung wahr, daß wir keine analoge Bildungen aus der pathologischen Anatomie kennen. Doch ist dies noch kein Grund dafür, die Möglichkeit solcher Bildungen abzulehnen. Wir müssen außerdem an dieser Stelle noch einmal betonen, daß das Endresultat dieses Prozesses nicht die Bildung der Sicheln ist, sondern einer Flüssigkeit — das Sarkosporidiocystin — welche durch das Zugrundegehen der Sicheln zustande kommt.

Alle bisher bekannten pathologischen Neubildungen werden durch eine plötzliche äußerst starke lokale Vermehrung gewisser Gewebszellen hervorgerufen. Die Vermehrung dieser Zellen überschreitet das Maß, welches durch das umgebende Gewebe bestimmt wird. Dadurch entstehen bestimmte von dem umgebenden Gewebe wohl abgegrenzte Neubildungen, die aus lauter gleichartigen Zellen zusammengesetzt sind. In den MIESCHER'schen Schläuchen haben wir in der Tat mit keinen ähnlichen Bildungen zu tun, da sie nicht durch eine Vermehrung von Zellen, sondern durch die Zuwanderung (Ansammlung) und Vermehrung von Zellkernen hervorgerufen werden.

Nach unserem Zellbegriff erscheint eine solche Wanderung von Zellkernen sehr sonderbar und bis zu einem hohen Grade unwahrscheinlich. Wir dürfen jedoch nicht außer acht lassen, daß speziell das Muskelgewebe ein so weitgehendes Differenzierungsprodukt des Plasmas darstellt, daß vom letzteren nichts mehr übrig geblieben ist und der Zellkern direkt den Muskelfibrillen aufsitzt, oder sich zwischen denselben befindet. Unser bei primitiven Geweben oder bei Protozoen gebildeter Zellbegriff muß bei hoch differenzierten Geweben eine sehr beträchtliche Modifikation erfahren. Wenn wir ein typisches Muskelgewebe genauer beobachten, können wir in demselben keine Zellen konstatieren. Ja es gibt gewisse Crustaceen (Copepoden), bei denen in dem Muskelgewebe überhaupt keine Zellkerne festzustellen sind (MOROFF 08, 12). Außerdem sind Zellkerne und Muskelfibrillen bis zu einem sehr hohen Grade unabhängig voneinander geworden. Bereits GODLEWSKI (1901) hat festgestellt, daß bei der Differenzierung der Muskelfibrillen letztere ihren Bildungsort verlassen und beträchtliche Wanderungen machen können. Die Zellkerne sind von den Muskelfibrillen ebenfalls unabhängig geworden und sie können sich von ihnen entfernen. Auch ihre Teilung ist ein Zeichen dafür, daß sie unabhängig von den Muskelfibrillen geworden sind, so daß eine Wanderung nur von Muskelkernen nichts Auffallendes an sich hat.

Jetzt müssen wir die Frage erörtern ob diese Wanderung und Vermehrung der Muskelkerne zur Bildung der MIESCHER'schen Schläuche für den Organismus von einem normalen oder von einem pathologischen Charakter ist. Dadurch würde die Frage nach dem Begriff des pathologischen zur Erörterung gebracht, was außerhalb des Rahmens vorliegender Abhandlung steht. Wir wollen jedoch hier nur einige Momente aus der Bildung der MIESCHER'schen Schläuche an dieser Stelle hervorheben.

Die Miescher'schen Schläuche kommen regelmäßig bei Grasfressern vor. Bei jugendlichen Tieren sind sie entweder nicht zu finden oder man begegnet ihnen in einer sehr spärlichen Anzahl. Mit dem zunehmenden Alter des Tieres wird ihr Vorkommen immer häufiger. Man hat manchmal auch Fälle beobachtet, bei denen die Muskulatur des ganzen Körpers von ihnen durchsetzt ist; besonders bei kachektischen Tieren ist das der Fall. Diese Umstände sprechen zugunsten der Annahme, daß die Miescher'schen Schläuche als Resultat pathologischer Prozesse der Zellkerne anzusehen sind. Auch die Erscheinungen, die sich während dieses Prozesses an den Kernen abspielen, kommen zur Unterstützung dieser Annahme. Die Kerne erfahren ihre Veränderungen teilweise unter pyknotischen Erscheinungen. Auch ihre Vermehrung trägt den Stempel des Zerfalls.

Es ist eine regelmäßige Erscheinung, daß auch ganze Muskelbündel im vorgeschrittenen Alter der Tiere einer Transformierung in Bindesubstanz anheimfallen, was bis zu einem hohen Grade gleichbedeutend mit einer Auflösung derselben ist. Bei diesem Prozeß bleiben die Muskelkerne gewöhnlich erhalten und werden zu Kernen des Bindegewebes. Doch wird, wie es scheint, ein Teil davon auch aufgelöst.

Die Kernauflösung im tierischen Körper ist eine gewöhnliche Erscheinung und zwar erfolgt sie nicht nur bei erwachsenen Individuen, sondern auch während der Embryonalentwicklung derselben. Sie bleibt jedoch für den Forscher in den meisten Fällen unbemerkt, weil sie nicht in einer so auffallenden Weise vor sich geht. Es bricht sich jedoch in der letzten Zeit der Gedanke immer mehr Bahn, daß, wo nur immer histologische Differenzierungen vor sich gehen, sie unter der lebhaftesten materiellen Beteiligung der Zellkerne erfolgt. Es treten aus dem Kerne Substanzen (Chromidien) aus, die ins Protoplasma angelangt, sich in die verschiedenen Zelldifferenzierungen umwandeln. Die Fälle sind ebenfalls nicht selten wo dabei ganze Kerne aufgelöst werden. Mir (1912) gelang es bei Crustaceen festzustellen, daß bei den histologischen Differenzierungen während der Embryonalentwicklung des Tieres ganze Kernkomplexe auf größere Strecken aufgelöst werden (zerfallen). Dadurch wird das Material geschaffen, das zur Bildung des betreffenden Gewebes notwendig ist. Freilich können wir diesen Auflösungsprozeß der Kerne nicht als pathologisch bezeichnen.

So könnte man auch hier bei der Bildung der Miescher'schen Schläuche daran denken, daß man ebenfalls mit einer normalen Erscheinung des Organismus zu tun hat. Dabei wird als Endprodukt

dieses Auflösungsprozesses ein Sekret gebildet, das möglicherweise von irgendeiner Bedeutung für den Organismus selbst sein kann.

Zugunsten einer solchen Ansicht könnte man auch den Umstand heranziehen, daß die Muskelfibrillen, deren Kerne wenigstens zum Teil zum MIESCHER'schen Schlauch hingewandert sind, in ihrer Funktion nichts eingebüßt zu haben scheinen. Nur Muskelfibrillen, die sich in einer unmittelbaren Berührung mit der Schlauchoberfläche befinden, fallen, wie bereits erwähnt, einer Auflösung anheim.

Jedenfalls läßt sich nach unseren bisherigen Kenntnissen über MIESCHER'sche Schläuche nichts Positives über ihre physiologische Bedeutung für den Organismus selbst sagen, das wenigstens einigermaßen Anspruch auf Wahrscheinlichkeit erheben kann.

Literaturverzeichnis.

ALEXEIEFF, A. (1913): Recherches sur les Sarcosporidies. I. Etude morphologique. Arch. de Zool, expér. et gén. T. 51 p. 521—569, Pl. 7—9.

BERTRAM, A. (1892): Beiträge zur Kenntnis der Sarkosporidien nebst einem Anhang über parasitische Schläuche in der Leibeshöhle von Rotatorien. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat., Bd. 5 p. 684.

BETEGH, L. VON (1909): Beiträge zum Entwicklungsgang der Sarkosporidien. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 52 p. 566—573, mit 2 Taf.

BETEGH, L. VON u. VON DORICH (1912): Studien über Sarkosporidien. Centralb. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 63.

CHAGAS, C. (1910): Cytologische Studien über Adelea hartmanni, ein neues Coccidium aus dem Darme von Dysdercus ruficollis L. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Bd. 2.

DARLING, S. T. (1910): Experimental Sarkosporidiosis in the Guinea — Pig and its relation to a case of Sarkosporidiosis in Man. Journal of Experimental Medicine Vol. 12 p. 12.

— (1910): Sarkosporidiosis in the Opposum and its experimental production in the Guinea-Pig by the intramuscular injection of sporozoit. Extrait du Bulletin de la Société de Pathologie exotique Vol. 3 p. 513.

DOFLEIN, FR. (1912): Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena (Gustav Fischer).

EECKE, J. VAN (1892): Sarkosporidien. Jaarsverlag Labor. path. An. en Bact. te Weltewerden p. 37.

ERDMANN, RH. (1910): Kern und metachromatische Körper bei Sarkosporidien. Arch. f. Protistenk. Bd. 20 p. 239—250, Taf. 15.

— (1910b): Die Entwicklung der Sarcocystis muris in der Muskulatur. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde Jahrg. 1910 p. 377—387, Taf. 18 u. 19.

— (1910c): Beiträge zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte des Hammelsarkosporids in der Maus. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. I Bd. 53 p. 510—516, Taf. 1—4.

FERRET, P. (1903—04): Observations relatives au développement de la cuticule chez le Sarcocystis tenella. Arch. d'Anat. micr. T. 6 p. 86.

FIEBIGER, J. (1910): Über Sarkosporidien. Verh. d. k. k. zool.-botan. Ges. Jahrg. 1910 p. 72—88.

— (1912): Die tierischen Parasiten der Haus- und Nutztiere. Verlag bei Wilhelm Braumüller, Wien und Leipzig 1912.

GODLEWSKI, E. (1902): Die Entwicklung des Skelet- und Herzmuskelgewebes der Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 60 p. 111—156, Taf. 17—19.

HARTMANN, M. u. PROWAZEK, S. v. (1907): Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. Arch. f. Protistenk. Bd. 10 S. 306—335.

HERTWIG, R. (1904): Über physiologische Degeneration bei Actinosphaerium eichhorni. Nebst Bemerkungen zur Ätiologie der Geschwülste. Festschrift für HAECKEL 1904 p. 302—354, Taf. 9—11.

— (1903): Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Centralbl. Bd. 23 p. 49—62; 108—119.

JANIN, F. (1907): Recherches sur la sarcosporidie du mouton. Arch. de Parasitol. T. 11 p. 232—268, Pl. 3.

KASPAREK, TH. (1895): Beiträge zu den Infektionsversuchen mit Sarkosporidien. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. I Bd. 18 p. 327.

KOCH, M. (1902): Über Sarkosporidien. Verh. d. 5. Internat. zool. Kongr. Berlin p. 674.

LAVERAN et MESNIL, F. (1899): Sur la morphologie des Sarcosporidies. C. R. Soc. de Biol. Année 1899 p. 245.

— — (1899): Sur la sarcocystine, toxine des Sarcosporidies. C. R. Soc. de Biol. Année 1899 p. 311.

LÉGER, L. (1904): La réproduction sexuée chez les stylorhynchus. Arch. f. Protistenk. Bd. 3 p. 303—357, Taf. 13 u. 14.

— (1911): Caryospora simplex. Coccidie monosporée et la classification des Coccidies. Arch. f. Protistenk. Bd. 22 p. 71—88.

LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. (1902): Les Grégarines et l'épithélium intestinale chez les Trachéates. Arch. de Parasitol. Bd. 6 p 377—473, Taf. 2—6.

— — (1909): Etude sur la sexualité chez les Grégarines. Arch. f. Protistenk. Bd. 17 p. 19—134, Taf. 1—5.

— — (1910): Selenococcidium intermedium et la systématique des sporozoaires. Arch. de Zool. expér. et gén. (série 5) T. 5 p. 187—238, Pl. 1—2.

MANZ, W. (1867): Beiträge zur Kenntnis der MIESCHER'schen Schläuche. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 3 p. 345.

MIESCHER, F. (1842): Über eigentümliche Schläuche in den Muskeln einer Hausmaus. Bericht über die Verh. d. naturf. Ges. in Basel von August 1840 bis Juli 1842 p. 198.

MINCHIN, A. E. (1912): An Introduction to the Study of the Protozoa. London, Edward Arnold.

MOROFF, TH. (1906): Untersuchungen über Coccidien. I. Adelea zonula. Arch. f. Protistenk. Bd. 8 p. 17—51, Taf. 2.

— (1908): Die bei den Cephalopoden vorkommenden Aggregataarten usw. Ibid. Bd. 11 p. 1—224, Taf. 1—11.

— (1911): Untersuchungen über Coccidien. II. Klossia vitrina. Ibid. Bd. 23 p. 51—70.

— (1912): Cyto-histogenetische Studien. Zool. Jahrb. Bd. 34 p. 1—148, Taf. 1—13 (Separatabdruck).

NEGRE, L. (1907): Sarcosporidiose expérimentale. C. R. Soc. Biol. T. 62 p. 374.
— (1910): Sur le stade intestinal de la Sarcosporidie de la souris. Ibid. T. 65 p. 997.
NEGRI, A. (1908): Beobachtungen über Sarkosporidien. Centralbl. f. Bakt. Orig. Abt. I Bd. 53 p. 612.
— (1910): Beobachtungen über Sarkosporidien. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 55 p. 373.
PERRIER, L. (1907): Structure de spore de Sarcocystis tenella du mouton e de la chèvre. C. R. Soc. Biol. T. 52 p. 478.
PROBST (MUANSA): Über Sarkosporidienbefunde im Blute. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 14 1910. (Später dieselben Befunde von FRANCIS u. MÜHLENS.)
RÀTZ, ST. VON (1910): Über die Struktur der Sarkosporidienschläuche. Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 36 (Suppl.-Bd.) p. 573.
REICHENOW, E. (1910): Haemogregarina stepanowi. Die Entwicklungsgeschichte einer Hämogregarina. Arch. f. Protistenk. Bd. 20.
— (1912): Die Hämogregarinen. Handb. d. pathog. Protozoen von S. v. PROWAZEK, II, Lief. 1. Leipzig (J. A. Barth).
— (1912): Caryolysus lacertae. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde Nr. 9.
SCHELLACK, C. (1913): Coccidien-Untersuchungen. II. Die Entwicklung von Adelina dimidiata A. SCH., einem Coccidium aus Scolopendra cingulata LATR. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 45 p. 269—316, Taf. V—VIII.
SCHELLACK, C. u. REICHENOW, E. (1913): Coccidien-Untersuchungen. I. Barouxia schneideri. Ibid. Bd. 44.
SCHAUDINN, FR. (1900): Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien Zool. Jahrb., Abt. f. Morph., Bd. 13 p. 197—292, Taf. 13—16.
— (1902): Studien über krankheitserregende Protozoen. I. Cyclospora caryolitica. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 18 p. 378—416, Taf. 13 u. 14.
— (1904): Generations- und Wirtswechsel der Trypanosomen und Spirochäten. Ibid. p. 387—439.
SCHNEIDEMÜHL, G. (1897): Über Sarkosporidien. Tiermedizin. Vorträge Bd. 3 H. 11 p. 1—39. Leipzig.
SMITH, F. TH. (1901): The reproduction of Sarcosporidiosis in the Mouse bei feeding injected muscular tissue. Journ. of exper. Med. Vol. 6 p. 1 ff.
TEICHMANN, E. (1910): Über das Gift der Sarkosporidien. Arch. f. Protistenk. Bd. 20.
— (1911): Sarkosporidia. Handb. d. path. Protozoa von S. v. PROWAZEK p. 345—360.
— (1912): Über die Teilung der Keime in der Cyste von Sarcocystis tenella. Arch. f. Protistenk. Bd. 22 p. 239—247, Taf. 15.
TEICHMANN, E. u. BRAUN, H. (1912): Über ein Protozoentoxin (Sarkosporidiotoxin). Arch. f. Protistenk. Bd. 22 p. 351—365.
VIRCHOW, R. (1866): Gibt es eine Psorospermienkrankheit bei Schweinen. Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. Bd. 37 p. 255 ff.

Tafelerklärung.

Tafel 21.

Fig. 1. Ein Schnitt durch einen sehr jungen Schlauch, in welchem die Differenzierung der Schlauchhülle bereits begonnen hat; letztere ist in Form von dicken Stäbchen festzustellen. 1200/1. (Büffel.)

Fig. 2. Ein Teil eines Schnittes durch einen erwachsenen Schlauch (Büffel). In der Mitte der Schlauchhülle ist eine Muskelfibrille zu sehen, die ihre typische histologische Struktur noch nicht verloren hat. In den innerhalb der Schlauchhülle liegenden Kernen (Pansporoblasten) weisen die Nucleolen (Sphären) verschiedene Stadien ihrer Umwandlung. 1800/1.

Fig. 3. Ein Teil eines Schnittes durch einen erwachsenen Schlauch (Büffel), an dem man verschiedene Stadien von der Umwandlung der Muskelkerne in „Pansporoblasten" feststellen kann. 1200/1.

Fig. 4. Ein Teil eines Schnittes durch einen erwachsenen Schlauch (Büffel). Fixierung Sublimat-Alkohol-Eisessig. Hier kann man ebenfalls Übergangsstadien in der Umwandlung der Muskelkerne in „Pansporoblasten" feststellen. 900/1.

Fig. 5. Ein Teil eines Schnittes durch einen erwachsenen Schlauch (Büffel). Die äußere Schicht der Schlauchhülle ist breiter und stärker verändert als die innere; in derselben sind drei Kerne zu sehen, die dieselbe Struktur aufweisen wie die sogenannten Pansporoblasten. 900/1.

Fig. 6. Ein Teil eines Schnittes durch einen erwachsenen Schlauch (Büffel). An dieser Stelle ist keine Schlauchhülle festzustellen; die Muskelfibrillen gehen unmittelbar bis zu den „Pansporoblasten" heran. In den Muskelfibrillen selbst sind auch zwei Kerne zu sehen, die eine ähnliche Struktur aufweisen wie die Pansporoblasten. 1800/1.

Tafel 22.

Fig. 7 u. 8. Diese Figuren stellen zwei Teile eines Anschnittes von einem Schlauch dar. An denselben ist die Differenzierung der Sicheln zu sehen. 1500/1. (Schaf.)

Fig. 9. Ein Teil eines Schnittes durch einen erwachsenen Schlauch. An demselben ist die allmähliche Umwandlung der Muskelkerne in „Pansporoblasten" festzustellen. 1800/1.

Fig. 10. Diese Figur stellt einen Muskelkern dar, der eine so weitgehende Veränderung in seiner Struktur erfahren hat, daß er von seiner Umgebung nicht leicht zu unterscheiden ist; der Nucleolus ist in drei Stücken zerfallen. 2500/1.

Fig. 11—16. Muskelkerne, die eine weitgehende Veränderung in ihrer Struktur erfahren haben. Sie befinden sich in der Schlauchhülle. 2500/1.

Tafel 23.

Fig. 17. Ein Teil eines Anschnittes durch einen erwachsenen Schlauch. Daran ist die Umwandlung der Muskelkerne zu sehen. 2500/1. (Büffel.)

Fig. 18. Ein Teil eines Schnittes durch einen erwachsenen Schlauch (Büffel) zur Demonstrierung der Muskelkernumwandlung in Pansporoblasten und in Sicheln. 2500/1.

Fig. 19. Ein Teil eines Schnittes durch einen erwachsenen Schlauch (Schaf). Eine Schlauchhülle an dieser Stelle ist nicht ausgebildet. Verschiedene Übergangsstadien in der Umwandlung der Muskelkerne zu „Pansporoblasten“ und Sicheln. 1200/1.

Fig. 20. Ein Teil eines Schnittes durch einen erwachsenen Schlauch (Schaf). Umwandlung der Muskelkerne in „Pansporoblasten“. 1200/1.

Fig. 21. Ein Teil eines Schnittes durch einen erwachsenen Schlauch (Büffel). Übergangsstadien von der Umwandlung der Muskelkerne in Pansporoblasten. 1800/1.

Tafel 24.

Fig. 22. Ein Teil eines Schnittes durch einen erwachsenen Schlauch (Büffel). In der granulierten Schlauchhülle ist eine Muskelfibrille vorhanden. Die sogenannten Pansporoblasten weisen eine den bläschenförmigen Kernen ähnliche Struktur. 1800/1.

Fig. 23—26. In Ausbildung begriffene Sicheln; verschiedene Stadien von der Streckung und der Umwandlung der Sphäre. 3000/1. Büffel.

Fig. 27—29. Ausgebildete Sicheln. 3000/1.

Fig. 30—35. Auswachsen der Sicheln aus den Pansporoblasten. 2500/1.

Fig. 37 u. 38. Verschiedene Zerfallstadien der Sicheln. 2500/1.

Fig. 39. Junges Sarkosporidienstadium. 1200/1.

Fig. 40 – 45. Ganz junge Sarkosporidien (Anfangsstadien).

Zur Übertragung von *Haemoproteus columbae*.

Von
Dr. Richard Gonder,
Mitglied des Georg-Speyerhauses, Frankfurt a. M.

Auf dem internationalen medizinischen Kongreß in London 1913 nahm ich Gelegenheit, in einer Diskussion zu einem Vortrag von v. Wasielewsky über Vogelblutparasiten über meine experimentellen Untersuchungen der natürlichen Übertragung von *Haemoproteus columbae* kurz zu berichten. Die Ausführungen sind in einer sehr knappen und zudem nicht ganz richtigen Fassung eines für Zoologen nur schwer zugänglichen Kongreßberichtes erschienen, so daß ich glaube recht zu tun, sie an dieser Stelle ausführlicher darzulegen.

Die Experimente wurden schon 1910 in Transvaal in dem bekannten südafrikanischen Institut für veterinärwissenschaftliche Untersuchungen in Onderstepoort ausgeführt und hatten den Zweck, die de Beaurepaire Aragao'schen Befunde in der Taube und die Sergent'schen Ergebnisse über Übertragung und Entwicklung von *Haemoproteus columbae* in der Taube und in dem Überträger, den Lynchien, nachzuprüfen, resp. zu ergänzen.

Bekanntlich war es Edm. und Et. Sergent zum erstenmal gelungen, die Übertragung von *Haemoproteus columbae* mit der *Lynchia maura* nachzuweisen mit einer Inkubation von ca. 28—29 Tagen. Sie stellten bereits fest, daß die Infektion der *Lynchia* nicht auf die nachfolgende Generation der Fliegen vererbt wird. Diese Untersuchungen wurden von de Beaurepaire Aragao bestätigt. Aragao

arbeitete mit einer anderen Lynchienart, *Lynchia bruna* oder *livicolor*, und fand eine Inkubationszeit von 20—30 Tagen.

Ebenso wie die Brüder Sergent konnte Aragao in der *Lynchia* nur eine Entwicklung von *Haemoproteus* bis zum Ookineten feststellen. Dagegen fand er in dem Taubenorganismus einen vollständigen Entwicklungskreis, der sich in den Lungen abspielte. Mit Emulsionen von Magen- und Darminhalt infizierter Lynchien vermochte er auch Tauben, ebenso wie Sergent in neuester Zeit getan hat, mit einer durchschnittlich kürzeren Inkubation zu infizieren.

Die Untersuchungen der Brüder Sergent und von Aragao kann ich in jeder Beziehung vollständig bestätigen. Nur fand ich außer Lunge auch sehr häufig die Leber mit den großen Cysten infiziert. Mit dem Stich der Lynchien gelangen die Ookineten, die im Magen der Fliegen ihr Pigment verlieren, in das Blut der Tauben. Im Blut werden sie von den Leucocyten aufgenommen und nach der Lunge oder Leber verschleppt, wo sie festgehalten werden. In dem vergrößerten Leucocyten geht dann die weitere Entwicklung vor sich, die Bildung der Cysten, in denen sich die ganze schizogonische Vermehrung abspielt, die ich hier als bekannt voraussetzen darf (vgl. Bd. 12, Arch. f. Protistenk. 1908, S. 154 bis 167). Interessant sind die Beobachtungen über eine Differenzierung im Kern und Protoplasma in den Cysten. Auch diese Tatsache, daß sich in Cysten gleichen Alters kompakteres, nach Giemsa sich auch intensiver färbendes Protoplasma mit kleineren, regelmäßiger geformten Kernen, dann auch andere Cysten mit locker strukturiertem Plasma und weniger kompakten Kernen, die sich insgesamt nach Giemsa heller färbten, nachzuweisen sind, konnte ich bestätigen.

Ich möchte hier noch darauf aufmerksam machen, daß auch diese Differenzierung in den Cysten von *Haemoproteus oryzivorae* aus dem Reisvogel vorkommt. Bei der schizogonischen Entwicklung dieses Blutparasiten lassen sich stets im Gehirn, in der Leber und Milz deutlich zwei große Cystentypen unterscheiden, die jedenfalls auf eine frühe geschlechtliche Differenzierung in männliche und weibliche Formen schließen lassen. Die Unterschiede liegen in den kompakter und lockerer strukturiertem Kern und Plasma. Wenn es zum Platzen der vollgepfropften Cysten und zum Ausschwärmen der kleinen pigmentlosen Gametocyten kommt, lassen sich aber die jungen Gametocyten nicht unterscheiden. Erst bei der weiteren Entwicklung der Gametocyten in den Blutkörperchen treten wieder deutlich die bekannten Unterschiede zwischen Macro- und Microgametocyt hervor.

Es lag nun nahe, nochmals die Infektion in der *Lynchia* zu verfolgen, da man ja nach den Untersuchungen von SERGENT und ARAGAO die Art der Entwicklung in der *Lynchia*, die nur bis zum Ookineten geht, als ungewöhnlich bezeichnen muß, wenn man die Entwicklungskreise anderer Blutparasiten mit demjenigen von *Haemoproteus columbae* vergleicht. Wir kennen bisher noch keinen Blutparasiten mit Generationswechsel, dessen Entwicklung im Überträger nur bis zum Ookineten geht. Höchstens könnte man *Theileria parva* anführen, den Erreger des Küstenfiebers der Rinder in Afrika. Auch dieser Parasit macht in den Organen der Rinder eine schizogonische Entwicklung durch bis zu den Gametocyten, die die Blutkörperchen befallen. In den übertragenden Zecken kommt es zur Bildung kleiner Ookineten, die sich in der Zecke bis zur Häutung und darüber hinaus halten. Nach der Häutung nimmt die Zecke wieder Blut auf und infiziert dabei. Die von mir nach der Häutung der Zecken in den Drüsen und in Magenschläuchen gefundenen und als vermutliche Entwicklungsstadien gedeuteten Formen möchte ich heute nicht mehr als zu *Theileria* gehörig ansehen, da ich später ganz ähnliche Formen auch in nichtinfizierten Zecken bei einer Nachuntersuchung meiner Zeckenpräparate fand. Möglicherweise infizieren die Zecken auch nur mit den kleinen Ookineten.

Um die Entwicklung von *Haemoproteus columbae* in der *Lynchia* zu untersuchen, bediente ich mich zu Anfang der Versuche nur neu ausgeschlüpfter Fliegen, die sich, wie das die Brüder SERGENT und dann auch ARAGAO feststellten, als nichtinfektiös erwiesen. Die Lynchien, die sich nach einer Bestimmung des Museums in Pretoria als *Lynchia olfersia capensis* herausstellte, erhielt ich aus einem Taubenschlag, der sich auf dem Gelände des Institutes befand. Alle Tauben dieses Taubenschlages waren infiziert und auch jede *Lynchia*, die dem Taubenschlag entnommen wurde, entweder direkt von den Tauben oder auch als frei umherfliegende eingefangen wurde, war infektiös. Deshalb war es geboten, nur ganz einwandfreies Material zu verwenden.

Das Taubenmaterial hatte ich aus Europa von Hamburg aus mitgebracht. Die Tauben hatten, wie die mikroskopische Untersuchung ergab, keine Parasiten in ihrem Blut. Zur Vorsicht wurden sie in Afrika über einen Monat in einem durch Gaze abgeschlossenen Raum isoliert gehalten und dann nochmals untersucht, da ja leicht während des Transportes auf der Bahn in Afrika eine Infektion hätte stattfinden können. Diese Befürchtung war aber unnötig, da keine Taube infiziert war. Auch wurde jede Taube, ehe sie in das

Einzelexperiment in dicht verschlossenen Kasten kam, nochmals auf Parasiten untersucht.

Da es sich zeigte, daß die Lynchien, sobald sie eine gesunde Taube infiziert hatten, andere gesunde Tauben nicht mehr infizieren konnten, so war es leicht, vollständig einwandfreie Fliegen zu erhalten. Die Fliegen wurden dann, nachdem sie sich von der Infektion gereinigt hatten, nur auf gesunde Tauben weitergehalten und die abgelegten Puppen gesammelt. Die frisch ausgeschlüpften Fliegen wurden ebenfalls nur an gesunden Tauben gefüttert, solange sie nicht in Experimenten standen. Während eines halben Jahres blieben diese Tauben, die nur zur Fütterung der frisch ausgeschlüpften Fliegen gehalten wurden, frei von einer Infektion. Ab und zu wurde eine Taube aus diesem Behälter entnommen und zur Kontrolle auf Immunität durch infizierte Fliegen infiziert. Eine Immunität habe ich bei den Tauben, sobald das Blut von Parasiten frei war, niemals nachweisen können.

Versuchsreihen.

1. Versuch. Circa 40 Taubenfliegen, die im Taubenschlag gefangen waren, wurden auf eine gesunde Taube 1 in einem durch Gaze abgeschlossenen Käfig gebracht. Nach 24 Stunden wurden die Fliegen abgelesen und diejenigen, welche nicht Blut gesogen hatten, auf eine zweite gesunde Taube 2 gebracht. Die anderen auf eine dritte gesunde Taube 3. Taube 1 zeigte die ersten Parasiten im Blute am 26. Tage nach der Infektion durch die Fliegen, Taube 2, am 28. Tage und Taube 3 blieb parasitenfrei. Die Lynchien, die ich über einen Monat an gesunden Tauben am Leben halten konnte, infizierten nicht mehr. Sie waren von der Infektion „gereinigt". Es geht weiter aus dem Versuch hervor, daß die Lynchien auch noch über einen Tag hinaus ihre Infektion behalten können, da die Taube 2 infiziert wurde. Die aus den abgelegten Puppen der infizierten Fliegen frisch ausgeschlüpften Fliegen vermochten gesunde Tauben nicht zu infizieren, sondern mußten, wie wiederholte Versuche zeigten, um infektiös zu werden, erst infiziertes Blut von infizierten Tauben aufnehmen. Die Nachkommenschaft infizierter Fliegen ist demnach nicht infektiös. Eine Wiederholung dieses Versuches ergab dasselbe Resultat, wie der nächste Versuch zeigt.

2. Versuch. 23 frisch ausgeschlüpfte Fliegen wurden auf eine gut infizierte Taube gesetzt und 24 Stunden auf derselben gelassen. Nach 24 Stunden kamen die mit Blut vollgesogenen auf eine gesunde Taube 4, die nach 27 Tagen die ersten Parasiten im Blute

aufwies. Die Fliegen, welche noch kein Blut aufgenommen zu haben schienen, wurden auf der Taube 4 gelassen. Sie wurden erst am nächsten Tage abgelesen und auf eine gesunde Taube 5 zur Infektion, die auch nach 26 Tagen im Blut eintraf, gebracht. Lynchien, die ich ohne Blut höchstens 3 Tage, gewöhnlich nur 2 Tage, am Leben halten konnte, einerlei, ob infiziert oder nichtinfiziert, wurden auf ihre Infektion mikroskopisch untersucht. Dabei stellte es sich heraus, daß die Ookineten sich bis zum dritten Tage am Leben halten können, was auch aus dem Versuch mit Taube 6 hervorging. Lynchien aus Versuch 2 infizierten auch noch eine Taube 6 nach 30 Tagen, nachdem sie vorher schon je 24 Stunden auf Taube 4 und Taube 5 gesessen hatten. Zwischen beiden Versuchen (Taube 4 und Taube 6) lagen mehr als 48 Stunden. Der Grund konnte nur darin liegen, daß die eine oder andere *Lynchia* weder von der ersten Taube 4, noch der zweiten Taube 5 Blut gesogen hatte, sondern erst an der dritten Taube 6.

3. Versuch. Frisch ausgeschlüpfte Lynchien, welche nur für einige Stunden (ca. 4—5) auf gut infizierten Tauben gesessen hatten — natürlich wurden für die weiteren Versuche nur diejenigen genommen, denen man äußerlich schon ansah, daß sie frisches Blut gesogen hatten — kamen auf eine gesunde Taube 7, die sich auch nach 29 Tagen als infiziert erwies. Nach 2 Tagen wurden die Fliegen auf eine weitere gesunde Taube gebracht, die frei von Parasiten blieb. Dieses Experiment wurde mehrmals mit dem gleichen Resultat wiederholt.

Aus diesem Versuch geht hervor, daß Lynchien, die sich einmal infiziert haben, auch nur einmal gesunde Tauben infizieren können. Sobald Lynchien gesunde Tauben infiziert hatten — man muß darauf achten, daß auch eine Blutaufnahme von einer gesunden Taube mit Sicherheit stattgefunden hat — so war eine weitere Infektion durch diese Lynchien nicht mehr zu erreichen. Man kann also hier von einer „Reinigung“ der Lynchien sprechen, genau so wie man es bei der Reinigung der Küstenfieberzecken tut. Die Infektion kann sich also nicht lange in der *Lynchia* halten und vielleicht auch aus diesem Grunde nicht auf die Eier und die abzulegenden Puppen übertragen.

4. Versuch. Einmal infizierte Lynchien, die, wie obige Versuche gezeigt hatten, nicht mehr infiziert waren, sondern sich gereinigt hatten, wurden wiederum auf infizierte Tauben gebracht, nach 24 Stunden abgelesen und auf gesunde Tauben gesetzt. Die gesunden Tauben waren prompt nach 23—30 Tagen infiziert, genau

wie bei einer Infektion durch zum erstenmal infizierte Lynchien. Die Lynchien erlangen demnach keine Immunität.

5. Versuch. Frisch ausgeschlüpfte Fliegen und ebenso auch in einem Parallelversuch aus dem Taubenschlag gefangene Fliegen wurden nur auf infizierten Tauben gehalten, und von diesen wurden gelegentlich einige Fliegen auf gesunde Tauben gebracht. Die Lynchien infizierten immer, auch wurden in ihrem Magen regelmäßig Ookineten gefunden.

Aus diesem und dem vorhergehenden Versuch, der mehrmals wiederholt wurde, geht klar hervor, daß die Infektion in den Lynchien nur abhängt von dem Blute, das die *Lynchia* aufnimmt. Eine infizierte *Lynchia* verliert ihre Infektion, wenn sie an einer gesunden nichtinfizierten Taube Blut saugt, sie verliert offenbar ihre alte Infektion, wenn sie an einer infizierten Taube Blut mit den Parasiten aufnimmt, infiziert sich aber dabei von neuem.

Die mikroskopische Untersuchung des Magendarminhaltes der infizierten Lynchien ergab eine Entwicklung der Gametocyten zu Gameten, deren Befruchtung und die Ausbildung der Ookineten. Die Microgametocyten runden sich sehr bald ab, sobald sie in den Magen der *Lynchia* gelangen, und gleich darauf tritt auch die Microgametenbildung auf. Das gleiche geschieht auch mit den Macrogametocyten. Ich habe genau die gleichen Zeiten auch bei der Bildung der Ookineten in der feuchten Kammer beobachtet. Nach 1—2 Stunden waren die Ookineten bereits entwickelt. ARAGAO fand in seinen Lynchien die Ookinetenbildung erst 2—3 Stunden nach der Blutaufnahme. Die Ookineten von gregarinenartiger Gestalt führen meist auch gregarinenartige Bewegungen aus, manchmal auch schnellende. Sie verlieren durch Abschnürung das Pigment und durch eine zweite Abschnürung nochmals einen Teil ihres Protoplasmas, so daß das Endprodukt ein ziemlich kleiner Ookinet ist.

Zu einer weiteren Entwicklung kommt es in der *Lynchia* nicht. Es sind die kleinen Ookineten, die durch den Fliegenstich in das Blut der Taube gelangen, dort von den Leucocyten aufgenommen werden und nach der Lunge oder Leber verschleppt werden, wo dann die Bildung der Cysten vor sich geht. Die Cysten, die durch die schizogonische Vermehrung an Größe immer mehr zunehmen, platzen schließlich, die jungen Gametocyten treten heraus und befallen noch in den Organen die roten Blutkörperchen. Die jungen Parasiten wachsen sich im Blute ausschließlich zu geschlechtlichen Individuen aus, Micro- und Macrogametocyten.

DE BEAUREPAIRE ARAGAO ist es nicht gelungen, Tauben durch

Injektion von infiziertem Taubenblut zu infizieren. Diese Versuche, die ich wiederholte, mißlangen mir alle mit einer Ausnahme, bei welcher es sich herausstellte, daß im Blut, das injiziert wurde, bereits Microgameten und Macrogameten und auch einige Ookineten vorhanden waren. Mit ganz frischem Blut gelang mir eine Übertragung niemals.

Wenn es aber nach allen diesen Versuchen feststand, daß infizierte Lynchien nur mit Hilfe der Ookineten gesunde Tauben infizieren können, so lag nichts näher, als zu versuchen, Tauben mit Ookineten zu infizieren, die man mit Leichtigkeit in der feuchten Kammer erhält. Zu diesem Zweck wurde das Blut in Schalen oder in Reagenzröhrchen zu zweidrittel mit physiologischer Kochsalzlösung gemischt und einige Stunden stehen gelassen. Jede halbe Stunde, zu Anfang alle 5 Minuten, wurden kleine Proben mikroskopisch untersucht und die Bildung der Ookineten verfolgt. Wie schon oben gesagt, vollzieht sich die Bildung der Ookineten genau so wie in der Fliege, allerdings habe ich nur ausnahmsweise eine zweite Protoplasmaabschnürung gesehen.

Impfte man derartiges Material gesunden Tauben ein, so trat prompt die Infektion mit der gleichen Inkubationszeit von 23—30 Tagen ein. Diese Versuche, die mehrmals wiederholt wurden, fielen ganz eindeutig aus.

Auch diese Versuche zeigten, daß nur die Entwicklung zum Ookineten genügt, künstlich eine Infektion hervorzurufen. Eine Weiterentwicklung ist gar nicht nötig. Die Bildung der Ookineten ist aber zur Infektion unbedingt erforderlich.

Von Taube auf Taube zu übertragen, gelang mir auch dann, wenn ich Organmaterial verwendete von frisch infizierten Tauben. Frisch infizierte Tauben wurden etwa zwischen dem 15. und 19. Tage getötet, — manchmal machte ich vorher, um mich über den Gang und über die Stärke der Infektion zu orientieren, mit feiner Nadel eine Lungenpunktion — die Lungen wurden zerkleinert und in Form einer groben Emulsion gesunden Tauben injiziert. Ich hatte dann, wenn auch nicht regelmäßig, mehrmals schwache Infektionen mit kürzerer Inkubationszeit (die längste war 19 Tage).

Eine solche direkte Übertragung läßt sich dadurch erklären, daß sich die überimpften Cysten in dem neuen Taubenorganismus weiterentwickeln können. Auch mit sehr vorgerückten Cystenstadien und kleinen pigmentlosen Gametocyten, die frei in der Lunge kurz nach dem Ausschwärmen zu finden sind, lassen sich

Tauben direkt infizieren. Die Inkubation beträgt dann nur wenige Tage ca. 6, und die Infektion ist äußerst schwach.

Ganz analoge Fälle sind beim Küstenfieber der Rinder vorhanden. Hier kann man mit dem Blute auf allen Stadien der Krankheit niemals eine Infektion erzielen. Dagegen ist mit Organmaterial die Infektion möglich, da sich in den Organen die schizogonische Entwicklung abspielt, die bei einer Überpflanzung auf ein gesundes Rind ruhig weitergehen kann bis zur Ausbildung der Gametocyten im Blut der Rinder.

Kurz zusammengefaßt, geht aus den Experimenten folgendes hervor:

Die Infektion von *Haemoproteus columbae* vererbt sich in der Fliege nicht. *Haemoproteus columbae* entwickelt sich in der Fliege *Lynchia capensis olfersia* nur bis zum Ookineten, der durch eine zweimalige Protoplasmaabschnürung sein ganzes Pigment und einen Teil seines Protoplasmas einbüßt. Solange Ookineten im Magen der Fliege vorhanden sind, ist auch eine Infektion durch diese Fliege möglich.

Die Fliegen reinigen sich von der Infektion, wenn sie zur vollen Blutaufnahme bei einer gesunden Taube kommen.

Die Lynchien sind aber niemals immun gegen Neuinfektionen, sondern können sich von neuem mit *Haemoproteus columbae* infizieren.

Eine Reinigung der Lynchien kann nicht stattfinden, wenn sich die Fliegen an infizierten Tauben ernähren.

Eine künstliche Übertragung von *Haemoproteus columbae* von infizierten Tauben auf gesunde Tauben ist mit Blut nicht möglich, erfolgt aber leicht, wenn man künstlich in der feuchten Kammer im Blut die Bildung der Ookineten hervorruft und dann injiziert. Auch mit Lungenmaterial ist eine direkte Übertragung möglich.

Nachruf.

Walter Mulsow †.

Der aus allen Ständen und Berufen seine Opfer wahllos heischende Weltkrieg verschont auch unsere Reihen nicht. So ist es heute unsere traurige Pflicht, den Tod eines jungen Protozoenforschers und Mitarbeiters des Archivs für Protistenkunde mitzuteilen: Am 25. Sept. wurde Dr. Walter Mulsow als Offizierstellvertreter im Königl. Bayr. Infanterie-Leibregiment in einem Gefechte bei Vermandovillers an der Spitze seines Zuges tödlich verwundet.

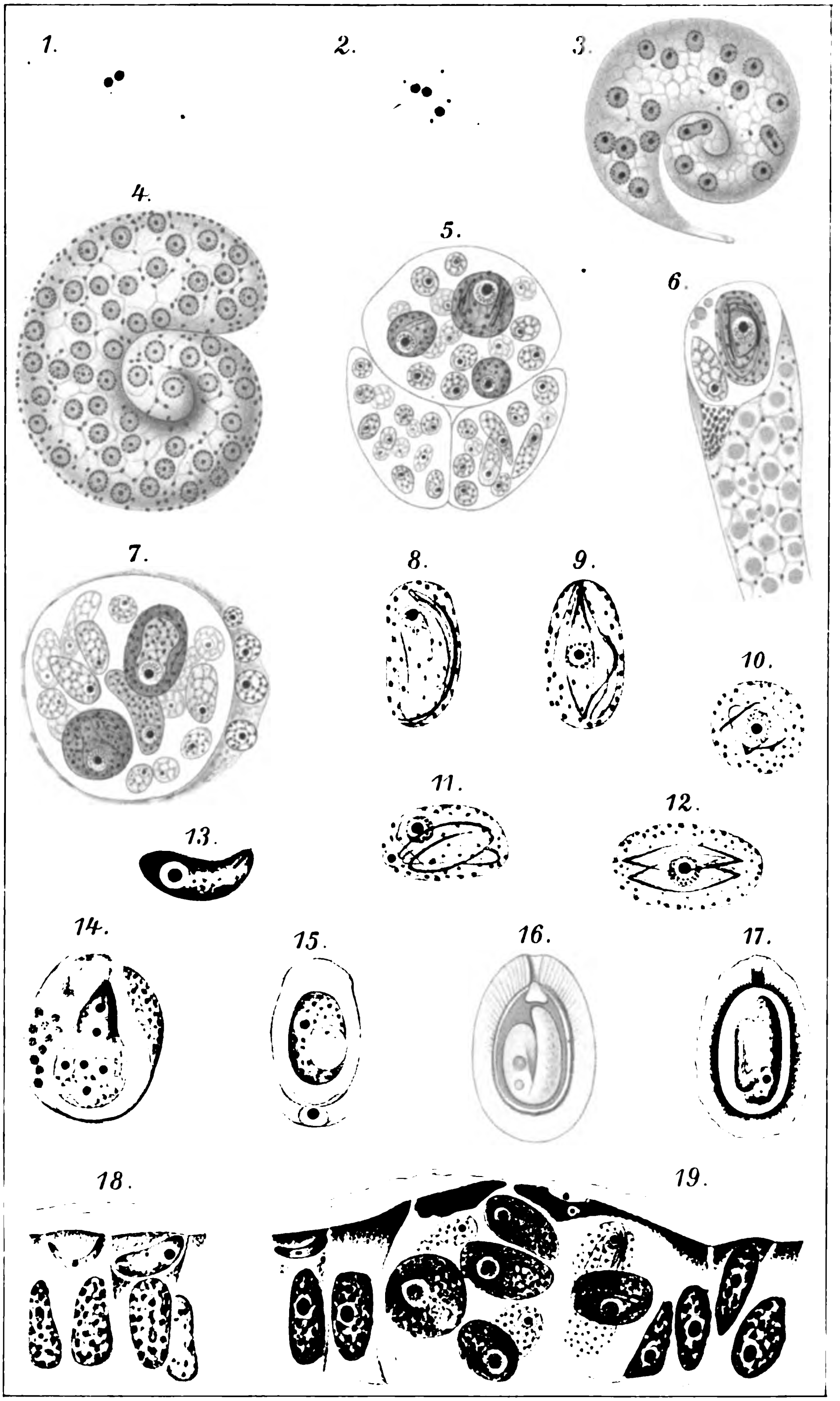
Walter August Wilhelm Mulsow wurde am 24. März 1890 als Sohn des Lehrers Mulsow in Neubrandenburg geboren, besuchte das Gymnasium seiner Vaterstadt und studierte alsdann auf der Universität München Naturwissenschaften, im besonderen Zoologie. Unter der Leitung Richard Hertwig's wandte er sich vor allem dem Studium der Protozoen zu und promovierte im Juli 1912 auf Grund einer in diesem Archiv veröffentlichten Dissertation über „Die Conjugation von *Stentor coeruleus* und *Stentor polymorphus*“ zum Doktor der Philosophie. Nach Ableistung seiner Militärpflicht arbeitete er alsdann vom Herbst 1913 bis zum Kriegsausbruch im Protozoenlaboratorium des Instituts für Infektionskrankheiten zu Berlin.

Ein viel versprechender junger Forscher ist mit ihm am Beginn seiner wissenschaftlichen Tätigkeit jäh dahingerafft. Die Doktordissertation ist seine einzige größere wissenschaftliche Veröffentlichung geblieben. Untersuchungen über verschiedene parasitische Formen waren im Gange, als der Krieg ihn aus seiner Tätigkeit herausriß. Aber schon diese eine Arbeit über die Conjugation von *Stentor* zeigt jedem mit dem Gebiete Vertrauten klar einen Grundzug Walter Mulsow's: Den unermüdlichen zähen Fleiß und die Energie, mit der er den gestellten wissenschaftlichen Fragen bis zu Ende nachging und die ihn alle Schwierigkeiten und Tücken des — in diesem Falle besonders spröden — Objektes überwinden ließen, Eigenschaften, die im Verein mit dem besonnen abwägenden Urteil für die Zukunft schöne Erfolge erwarten ließen.

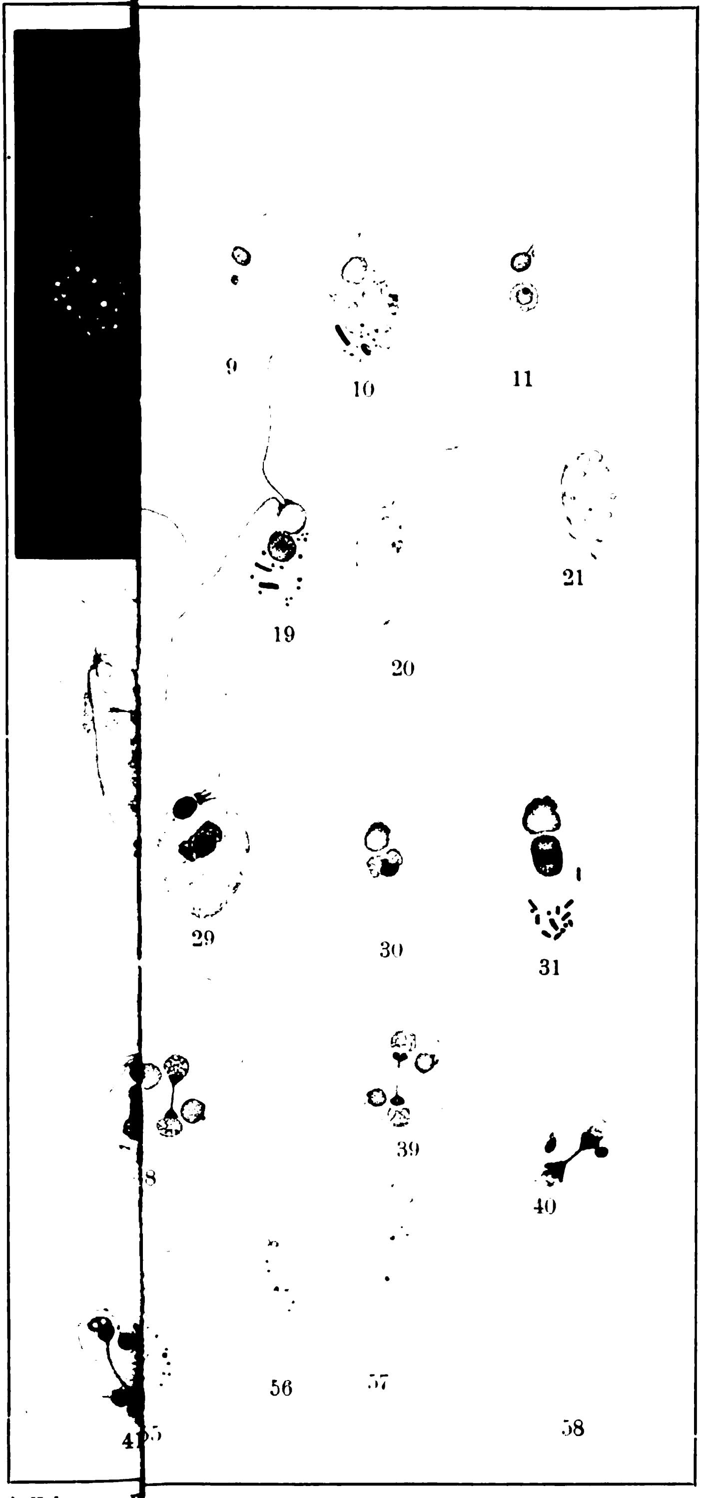
Die ihn näher kannten, betrauern aber vor allem den frischen, geraden und offenen, für alle Schönheiten der Natur leicht empfänglichen Gefährten, als der er sich überall Achtung und Freundschaft erwarb und in unserer Erinnerung weiterlebt.

V. Jollos.

G. Pätz'sche Buchdr. Lippert & Co. G. m. b. H., Naumburg a. d. S.

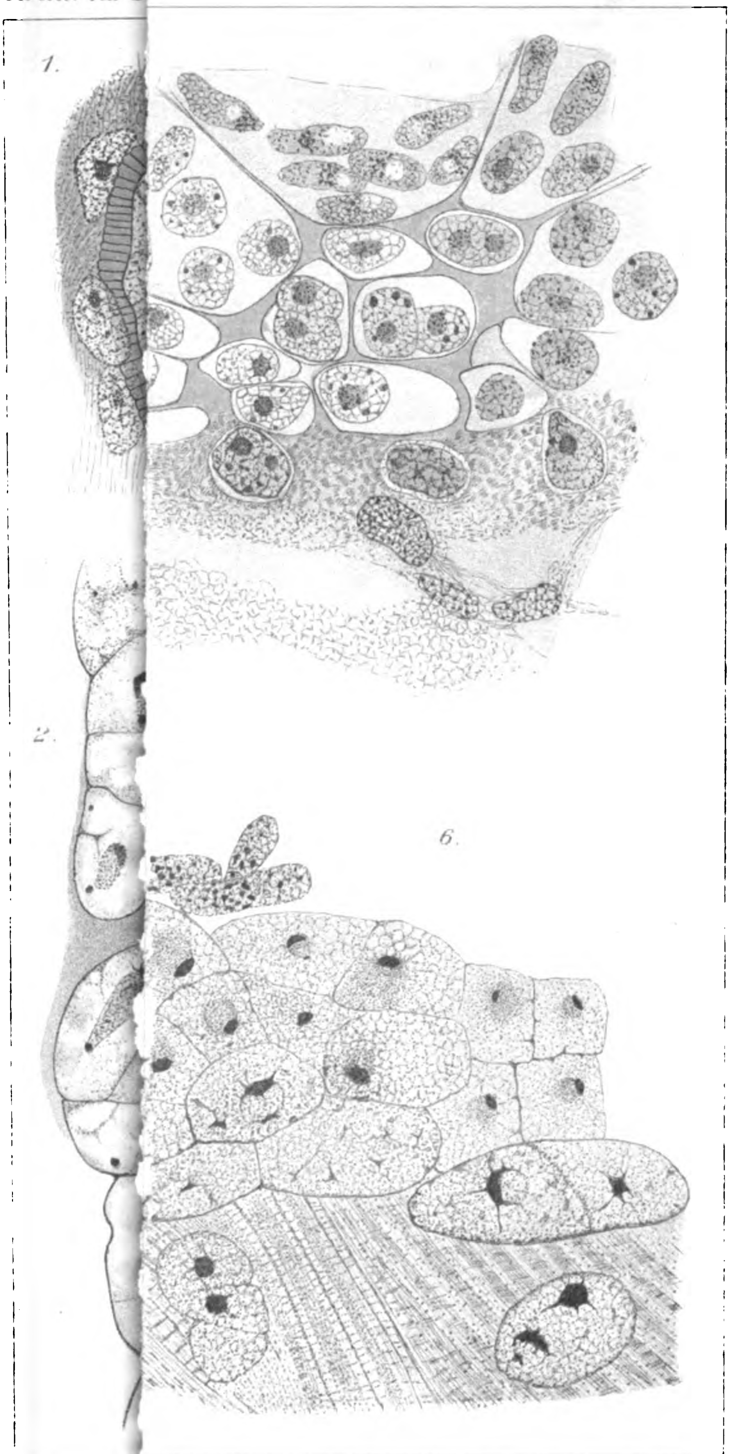

1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
17.
18.
19.

Taf. 20.



A. Kühn gez.; F

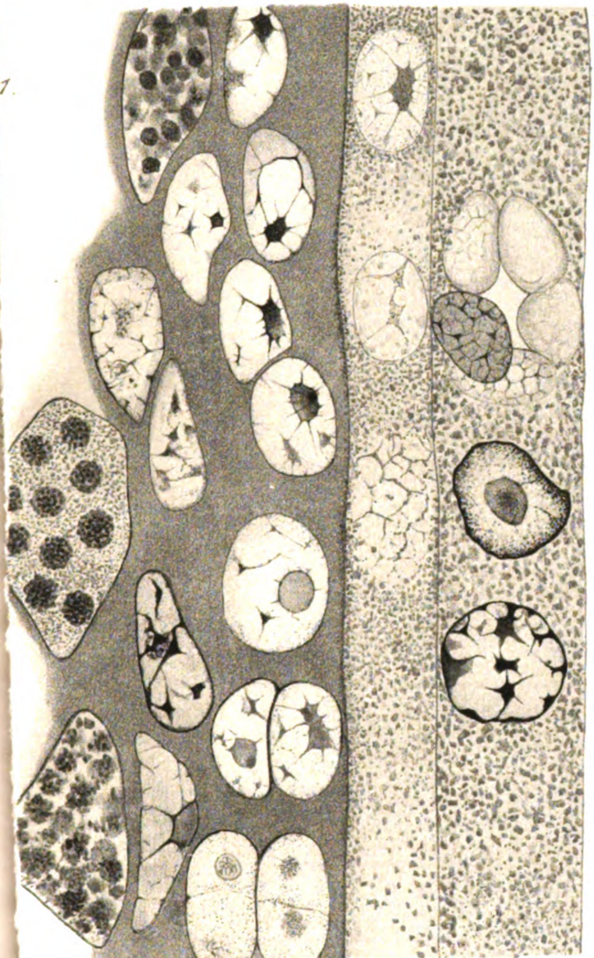
Faksimilefarbenlichtdruck von Albert Frisch, Berlin W.



Moroff, gez.

Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena

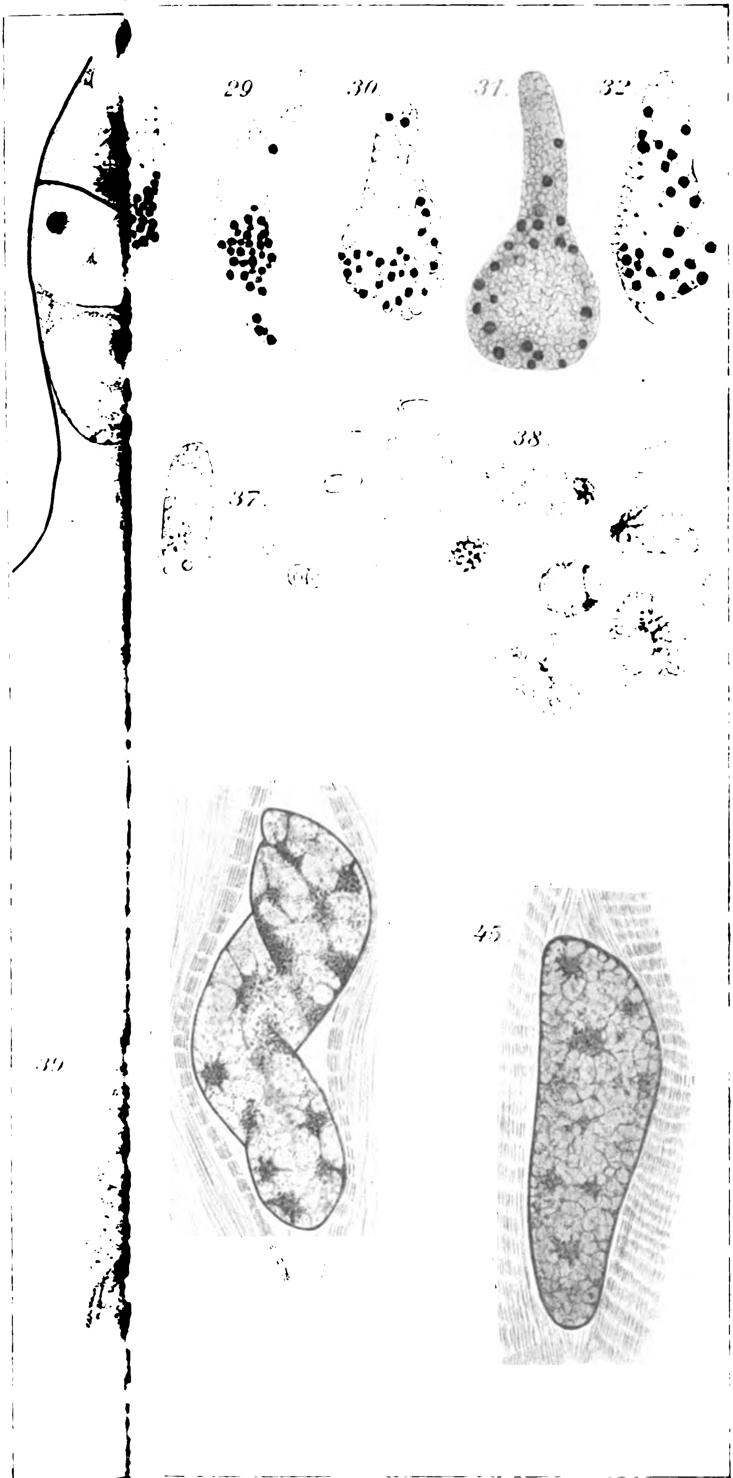
1.





Mo

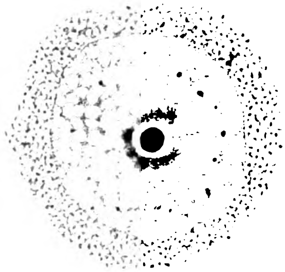
Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena.

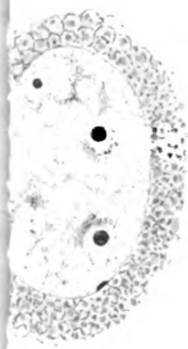


Moroff gez.

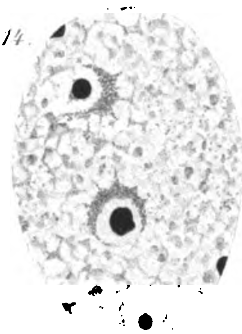
Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena

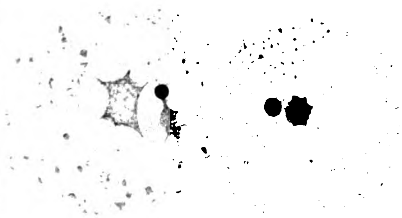
2.



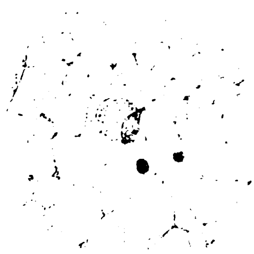


14.





16.



Mo

Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena